



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA

Escuela Internacional de Doctorado EINDOC-UPCT

**ESTUDIO DE VIABILIDAD DEL USO DE AGUA REGENERADA Y
RIEGO DEFICITARIO CONTROLADO EN CÍTRICOS**

Memoria que presenta

CRISTINA ROMERO TRIGUEROS

Director: EMILIO NICOLÁS NICOLÁS

Co-director: PEDRO ANTONIO NORTES TORTOSA

2018

**CONFORMIDAD DE SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE DEPÓSITO DE
TESIS DOCTORAL POR EL DIRECTOR DE LA TESIS**

D. EMILIO NICOLÁS NICOLÁS, Director de la Tesis doctoral “ESTUDIO DE VIABILIDAD DEL USO DE AGUA REGENERADA Y RIEGO DEFICITARIO CONTROLADO EN CÍTRICOS”,

INFORMA:

Que la referida Tesis Doctoral, ha sido realizada por D^a. CRISTINA ROMERO TRIGUEROS, dentro del programa de doctorado TÉCNICAS AVANZADAS EN INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO AGRARIO Y ALIMENTARIO (TAIDA), dando mi conformidad para que sea presentada ante la Comisión de Doctorado para ser autorizado su depósito.

La rama de conocimiento en la que esta tesis ha sido desarrollada es:

- ☒ Ciencias
- ☐ Ciencias Sociales y Jurídicas
- ☐ Ingeniería y Arquitectura

En Cartagena, a 13 de noviembre de 2017

EL DIRECTOR DE LA TESIS

Fdo.: Emilio Nicolás Nicolás

COMISIÓN DE DOCTORADO

**CONFORMIDAD DE SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE DEPÓSITO DE
TESIS DOCTORAL POR EL CO-DIRECTOR DE LA TESIS**

D. PEDRO ANTONIO NORTES TORTOSA, Co-director de la Tesis doctoral “ESTUDIO DE VIABILIDAD DEL USO DE AGUA REGENERADA Y RIEGO DEFICITARIO CONTROLADO EN CÍTRICOS”

INFORMA:

Que la referida Tesis Doctoral, ha sido realizada por D^a. CRISTINA ROMERO TRIGUEROS, dentro del programa de doctorado TÉCNICAS AVANZADAS EN INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO AGRARIO Y ALIMENTARIO (TAIDA), dando mi conformidad para que sea presentada ante la Comisión de Doctorado para ser autorizado su depósito.

La rama de conocimiento en la que esta tesis ha sido desarrollada es:

- ☒ Ciencias
- ☐ Ciencias Sociales y Jurídicas
- ☐ Ingeniería y Arquitectura

En Cartagena, a 13 de noviembre de 2017

EL CO-DIRECTOR DE LA TESIS

Fdo.: Pedro Antonio Nortes Tortosa

COMISIÓN DE DOCTORADO

**CONFORMIDAD DE SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE DEPÓSITO DE
TESIS DOCTORAL POR EL CO-DIRECTOR DE LA TESIS**

D. PEDRO ANTONIO NORTES TORTOSA, Co-director de la Tesis doctoral “ESTUDIO DE VIABILIDAD DEL USO DE AGUA REGENERADA Y RIEGO DEFICITARIO CONTROLADO EN CÍTRICOS”

INFORMA:

Que la referida Tesis Doctoral, ha sido realizada por D^a. CRISTINA ROMERO TRIGUEROS, dentro del programa de doctorado TÉCNICAS AVANZADAS EN INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO AGRARIO Y ALIMENTARIO (TAIDA), dando mi conformidad para que sea presentada ante la Comisión de Doctorado para ser autorizado su depósito.

La rama de conocimiento en la que esta tesis ha sido desarrollada es:

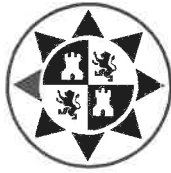
- ☒ Ciencias
- ☐ Ciencias Sociales y Jurídicas
- ☐ Ingeniería y Arquitectura

En Cartagena, a 13 de noviembre de 2017

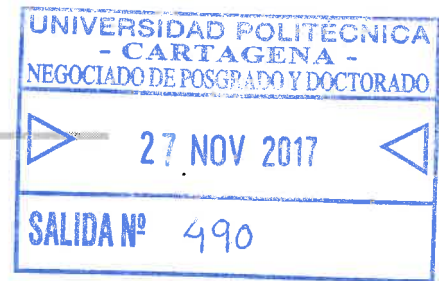
EL TUTOR DE LA TESIS

Fdo.: Alejandro Pérez Pástor

COMISIÓN DE DOCTORADO



UNIVERSIDAD
POLITÉCNICA DE
CARTAGENA
COMITÉ DE DIRECCIÓN DE LA EINDOC



Sra. Dña. Cristina Romero Trigueros

Visto el informe favorable del Director de Tesis y el Vº Bº de la Comisión Académica del Programa de Doctorado “Técnicas Avanzadas en Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario” para la presentación de la Tesis Doctoral titulada: “*Estudio de viabilidad del uso de agua regenerada y riego deficitario controlado en cítricos*” en la modalidad de “compendio de publicaciones” solicitada por Dña. Cristina Romero Trigueros, el Comité de Dirección de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Politécnica de Cartagena, en reunión celebrada el 27 de noviembre de 2017, considerando lo dispuesto en el artículo 23 del Reglamento de Estudios Oficiales de Doctorado de la UPCT, aprobado en Consejo de Gobierno el 17 de diciembre de 2015,

ACUERDA

Autorizar la presentación de la Tesis Doctoral a Dña. Cristina Romero Trigueros en la modalidad de “compendio de publicaciones”.

Contra el presente acuerdo, que no agota la vía administrativa, podrá formular recurso de alzada ante el Sr. Rector-Magnífico de la Universidad Politécnica de Cartagena, en el plazo de un mes a partir de la notificación de la presente.

Cartagena, 27 de noviembre de 2017

EL DIRECTOR DE LA ESCUELA
INTERNACIONAL DE DOCTORADO



Edo.: Pablo Fernández Escámez

Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Cartagena (ETSIA)

Tesis presentada en la modalidad de compendio de artículos:

1. **Cristina Romero Trigueros;** Pedro Antonio Nortes Tortosa; Francisco Pedrero Salcedo; Oussama Mounzer; Juan José Alarcón Cabañero; Jose María Bayona Gambín; Emilio Nicolás Nicolás. Assessment of the viability of using saline reclaimed water in grapefruit in medium to long term. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2014, 12(4), pp. 1137-1148.
DOI: 10.5424/sjar/2014124-5495.

2. **Cristina Romero Trigueros;** Pedro Antonio Nortes Tortosa; Juan José Alarcón Cabañero; Johannes E. Hunink; Margarita Parra; Sergio Contreras; Peter Drogers; Emilio Nicolás Nicolás. Effects of saline reclaimed waters and deficit irrigation on Citrus physiology assessed by UAV remote sensing. *Agricultural Water Management*, 2017, 183, pp. 60-69.
DOI: 10.1016/j.agwat.2016.09.014.

3. **Cristina Romero Trigueros;** Pedro Antonio Nortes Tortosa; Juan José Alarcón Cabañero; Emilio Nicolás Nicolás. Determination of ^{15}N stable isotope natural abundances for assessing the use of saline reclaimed water in grapefruit. *Environmental Engineering and Management Journal*, 2014, 13(10), pp. 2525-2530.

4. **Cristina Romero Trigueros;** Pedro Antonio Nortes Tortosa; Margarita Parra; José María Bayona Gambín; Juan José Alarcón Cabañero; Emilio Nicolás Nicolás. Effect of deficit irrigation and reclaimed water on yield and quality of grapefruits at harvest and postharvest. *LWT - Food Science and Technology*, 2017, 18(B), pp. 405-411
DOI: org/10.1016/j.lwt.2017.05.001.

Mención internacional:

1. Estancia en la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA). Viena (Austria).
Periodo: 11/08/2014 - 08/11/2014 (3 meses).
2. Estancia en el Instituto Nacional de Investigación Agronómica-Provence-Alpes-Côte d'Azur (INRA-PACA). Avignon (Francia).
Periodo: 01/07/2016 - 01/08/2017 (1 mes).

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada gracias al apoyo y financiación de los siguientes proyectos:

SIRRIMED (KBBE-2009-1-2-3, Proposal No. 245159)
SENECA (05665/PI/07 and 11872/PI/09)
SENECA–Excelencia Científica (19903/GERM/15)
CONSOLIDER INGENIO 2010 (CSD2006-0067 MEC)
CICYT (AGL2010-17553, AGL2013-49047-C2-515 2-R y AGL2016-77282-C3-1-R).

Además, la autora Cristina Romero Trigueros agradece el apoyo financiero recibido del programa JAE del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Emilio Nicolás, que no sólo ha trabajado intensamente en el desarrollo de esta Tesis, sino que me ha transmitido su ilusión y dedicación por la investigación. A él, darle las gracias por las largas jornadas, incluidas en días festivos, dedicadas a este Trabajo. Al Dr. Pedro A. Nortes por su supervisión y su capacidad resolutive. Al director del CEBAS-CSIC, Juanjo Alarcón, por haberme brindado esta gran oportunidad y por su apoyo y motivación en mi formación como investigadora. Gracias a los tres por el apoyo tanto profesional como personal.

Dar las gracias a mis compañeros y amigos Jose María Bayona y Marga Parra por haber compartido todos estos años y haber trabajado codo con codo en campo y laboratorio. Marga, tu cariño y apoyo incondicional, tus valiosos consejos y tus correcciones han sido claves para mí y para el desarrollo de esta Tesis.

Al resto de los compañeros del Departamento y a aquéllos que algún día pertenecieron también a él: Rosalía Alcobendas, José F. Maestre, José Manuel Mirás, Sara, M^o José y Oussama. José Manuel, gracias por tu disponibilidad y tu inestimable apoyo estadístico.

A los Drs. Gerd Dercon y Michel Génard por haberme abierto las puertas de sus Centros de investigación, por su buen trato y por las nuevas técnicas aprendidas.

Mi agradecimiento a todas mis amigas y amigos por estar a mi lado, ellos han sido la mejor terapia para evadirme.

A mis abuelos Eleuterio, Antonia y Juan, a mi primo Carlos, y a mi amiga Mari Carmen Lax, porque los llevo en el corazón día a día.

A Juanjo, por el cariño y el ánimo que me ha dado durante esta etapa.

A mis padres, Juan y Elena, ellos son mi modelo a seguir y mis pilares. Gracias por dejarme elegir en la vida y quererme incondicionalmente. Hoy estoy escribiendo esto gracias a ellos y a la educación que me han dado. A mis hermanos, Elena y Juan Luis, a mis sobrinas y al resto de mi familia y a la de Juanjo.

A lo que más quiero en la vida, a Carolina.

A Carolina,



¿Qué es la Ciencia?

Ver un *mundo* en un grano de arena,
El *firmamento* en una flor silvestre.
Dar cabida al *infinito* en la palma de tu mano,
Y a la *eternidad* en una hora.

William Blake.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	25
PREÁMBULO.....	29
PREAMBLE	35
I. RESUMEN	41
I. SUMMARY	53
II. OBJETIVOS	65
II. OBJECTIVES.....	69
III. ANTECEDENTES Y ESTADO DEL ARTE	79
III.1 RECURSOS HÍDRICOS. PROBLEMÁTICA MUNDIAL.	79
III.2 AGUA REGENERADA Y ESTRATEGIAS DE RIEGO DEFICITARIO.....	79
III.2.1 Agua regenerada	79
III.2.2 Riego deficitario controlado.....	88
III.3 CÍTRICOS.....	93
III.3.1 Origen, importancia comercial y taxonomía.....	93
III.3.2 Patrones	95
III.3.3 Especies objeto de estudio.....	97
III.3.4 Situación actual de los cítricos	101
III.4 TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO UTILIZADAS.....	108
III.4.1 Teledetección	108
III.4.2 Discriminación isotópica	112
IV. PUBLICACIONES QUE CONSTITUYEN LA TESIS DOCTORAL	119
IV.1 PUBLICACIÓN Nº 1	119
IV.1.2 Resumen en castellano	119
IV.1.2 Artículo original.....	133
IV.2 PUBLICACIÓN Nº 2	145

IV.2.1 Resumen en castellano	145
IV.2.2 Artículo original.....	159
IV.3 PUBLICACIÓN Nº 3	169
IV.3.1 Resumen en castellano	169
IV.3.2 Artículo original.....	179
IV. 4 PUBLICACIÓN Nº 4	185
IV.4.1 Resumen en castellano	185
IV.4.2 Artículo original.....	195
V. CONCLUSIONES	205
V. CONCLUSIONS	213
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	219
ANEXO I. ÍNDICE DE IMPACTO DE LAS PUBLICACIONES.....	247
ANEXO II. NOMENCLATURA. ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS.....	251
ANEXO III. CURRICULUM VITAE.....	261

PREÁMBULO

PREÁMBULO

En muchas regiones áridas y semiáridas del planeta, como el sureste español, la agronomía está sometida a diferentes estreses ambientales debido a la escasez de agua. Dado que la agricultura es una de las actividades humanas más importantes, es probable que dicha escasez cause graves repercusiones económicas (EEA, 2015). Asimismo, el cambio climático está afectando a los recursos hídricos de todo el mundo y, el sur de Europa es una de las zonas donde se prevé que la escasez de agua aumente en el futuro (Lavrnić et al., 2017).

Además, el crecimiento de la población, el incremento de demanda de alimentos y la competencia cada vez mayor por el agua y por el uso de la tierra están contribuyendo a las crecientes dificultades y desafíos en la gestión de los recursos hídricos para la agricultura y la alimentación (Pereira, 2017).

Las estimaciones indican que el consumo de agua en la agricultura aumentará en un 20% a nivel mundial para el año 2050 (WWAP, 2012) y que el 47% de la población mundial vivirá en zonas con estrés hídrico en 2030 (UNESCO, 2017).

Este hecho ha fomentado la búsqueda de recursos hídricos alternativos y el aumento de la productividad de los mismos, asegurando así que la producción de alimentos sea suficiente para hacer frente al crecimiento de la población.

En este sentido, una solución que permite responder a ambas preocupaciones es la reutilización de aguas regeneradas (AR) junto al empleo de estrategias de riego deficitario, constituyendo éstas un gran reto para el futuro de la actividad agrícola.

La FAO (2010) promueve la reutilización de las AR urbanas como un componente esencial de la gestión integrada de los recursos hídricos, que puede beneficiar al mismo tiempo a agricultores, ciudades y medio ambiente. Además, puede ser especialmente adecuada para el riego agrícola dado que contiene algunos nutrientes necesarios para el crecimiento de las plantas.

Otra forma de optimizar los recursos hídricos consiste en aplicar estrategias de riego deficitario controlado (RDC), basadas en la imposición de restricciones de agua durante los períodos de crecimiento con baja sensibilidad al estrés hídrico mientras que durante el resto del ciclo de cultivo se cubren completamente los requerimientos hídricos (Lampinen et al., 1995).

Los cítricos (*Citrus* spp. Rutaceae) son actualmente uno de los cultivos comerciales más importantes del área Mediterránea (Langgut, 2017). Concretamente, España tiene una larga tradición en la agricultura de cítricos y, en los últimos años, se ha incrementado su producción total (Torres et al., 2016) con 299.518 hectáreas dedicadas a cultivos de esta especie (MAGRAMA, 2016). Anualmente se producen más de 7 millones de t de cítricos (que equivalen aproximadamente a 3.000 millones de euros) y esta cantidad es sólo superada por China, Brasil, India, Estados Unidos y México (FAOSTAT, 2017). En concreto, el mandarino (*Citrus reticulata* Blanco) es el segundo cítrico más importante en el mundo, seguido del pomelo (*Citrus paradisi* Macf.). España es el segundo productor de mandarina del mundo (2.4 millones de t), sólo superado por China, y el mayor productor y exportador de pomelos de Europa, con 68.500 t de producción total (FAOSTAT, 2017), de la que se exporta un 93,4% (Maestre-Valero et al., 2016).

El área principal de producción de estos cítricos en España se sitúa en el sureste, caracterizada por un clima semiárido, con escasez de lluvia y alta demanda evaporativa. Por tanto, aunque ambos cultivos están bien adaptados, tanto a condiciones climáticas tropicales (húmedas) como semi-tropicales (cálido y secas), la cantidad de riego necesaria para la producción de fruta en fresco es muy alta, forzando a encontrar maneras de maximizar el ahorro de agua y mejorar el rendimiento final y la calidad de la cosecha (Pérez-Pérez et al., 2014).

Estos tres aspectos, AR, RDC y cítricos (cítricos regados con agua regenerada y estrategias de riego deficitario controlado) son el objeto de estudio de esta tesis.

La Tesis Doctoral se presenta en la modalidad de compendio de publicaciones, de acuerdo con el punto 1 del artículo 23 del Reglamento de Estudios Oficiales de Doctorado de la Universidad Politécnica de Cartagena, aprobado en Consejo de Gobierno en su sesión de 17 de diciembre de 2015, con un total de cuatro artículos, listados en ISI-JCR, que suman 13 puntos. Siguiendo las indicaciones del punto 3 del artículo 23 de dicho Reglamento, la Memoria de esta Tesis se estructura de la siguiente manera:

Epígrafe 1. Se expone un resumen general del estudio realizado (redactado también en inglés) donde se indican las líneas de investigación desarrolladas en la Tesis y los principales resultados obtenidos en cada una de las publicaciones.

Epígrafe 2. Se detallan los objetivos generales y específicos de la investigación llevada a cabo.

Epígrafe 3. Se describen los antecedentes y el estado del arte. El objetivo de este apartado es generar un marco conceptual que ayude al lector y recoger las investigaciones más recientes sobre el objeto de estudio de la Tesis.

Epígrafe 4. Se presentan las publicaciones que componen la Tesis. Cada una de ellas va precedida de un resumen en español que contiene una breve introducción, los materiales y métodos empleados, los resultados y discusiones más relevantes y, finalmente, las conclusiones principales.

Epígrafe 5. Se recogen las conclusiones más relevantes del trabajo de Tesis, derivadas de cada línea de investigación. Asimismo, se proponen futuras líneas de investigación, en base a los resultados obtenidos.

Epígrafe 6. Se citan las referencias bibliográficas consultadas a lo largo del desarrollo de la Memoria de Tesis.

Anexos: En el Anexo I se indica el factor de impacto de las cuatro publicaciones, en el Anexo II se presenta un listado de las abreviaturas y el índice de figuras y tablas; y en el Anexo III el currículo vitae abreviado de la doctorando Cristina Romero Trigueros.

PREAMBLE

PREAMBLE

In many arid and semi-arid regions of the world, such as southeastern Spain, agronomy is subject to different environmental stresses due to water scarcity. Agriculture is one of the most important human activities, so this shortage will cause serious economic repercussions (EEA, 2009).

Likewise, climate change is affecting water resources throughout the world and, southern Europe is one of the areas where water shortages are expected to increase in the future (Lavrnić et al., 2017).

Population growth, increasing demands for food, ever-growing competition for water, reduced supply reliability, climate change and climate uncertainty and droughts, decline in critical ecosystems services, competition for land use, changing regulatory environments, and less participatory water resources governance are contributing to increasing difficulties and challenges in water resource management for agriculture and food (Pereira, 2017).

Estimates indicate that water consumption in agriculture will increase by 20% globally by the year 2050 (WWAP, 2012) and that 47% of the world population will live in areas with water stress by 2030 (UNESCO, 2017).

This fact has fostered the search for alternative water resources and the increase of their productivity, thus ensuring that food production is sufficient to cope with the growth of the population.

In this sense, a solution that respond to both concerns is the reuse of reclaimed water (RW) together with the use of irrigation strategies such as regulated deficit irrigation (RDI), constituting a great challenge for the future of agricultural activity.

FAO (2010) promotes the reuse of urban RW as an essential component of integrated water resources management, which can at the same time benefit farmers, cities and the environment. In addition, it can be especially suitable for agricultural irrigation since it contains some nutrients necessary for the plants growth.

Another way to optimize water resources is to use deficit irrigation strategies, based on the imposition of water restrictions during periods of growth with low sensitivity

to water stress while during the rest of growth session water requirements are completely covered (Lampinen et al., 1995).

Citrus (*Citrus* spp. Rutaceae) are currently one of the most important commercial crops in the Mediterranean area (Langgut, 2017). Specifically, Spain has a long tradition in citrus agriculture and, in recent years, its total production has increased (Torres et al., 2016) with 299,518 hectares dedicated to crops of this species (MAGRAMA, 2016). Annually 7 million tons of citrus fruits are produced (equivalent to approximately 3000 million euros) and this quantity is only surpassed by China, Brazil, India, United States and Mexico (FAOSTAT, 2017). Specifically, mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) is the second most important citrus fruit in the world, followed by grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.). Spain is the second mandarin producer in the world (2.4 million tons), only surpassed by China and the largest producer and exporter of grapefruit in Europe, with 68,500 t of total production, of which 93.4% is exported 93.4% (Maestre-Valero et al., 2016).

The main production area of these citrus fruits in Spain is located in the southeast, characterized by a semi-arid climate, with scarce rainfall and high evaporative demand. Therefore, although both crops are well adapted to both tropical (humid) and semi-tropical (hot and dry) climatic conditions, the amount of irrigation needed for the production of fresh fruits is very high, forcing to find ways to maximize savings of water and improve the final fruit yield and quality (Pérez-Pérez et al., 2014).

These three aspects, RW, RDI and citrus crops irrigated with reclaimed water and deficit irrigation strategies) are the object of study of this Thesis.

The Doctoral Thesis is presented as a compendium of publications, in accordance with point 1 of article 23 of the Regulations for Official Doctoral Studies of the Polytechnic University of Cartagena, approved by the Governing Council in its session of December 17, 2015, with a total of four articles, listed in ISI-JCR, which add up to 13 points. Following the indications of point 3 of article 23 of said Regulation, the Memory of this Thesis is structured as follows:

Epigraph 1. A general summary of the study carried out (also written in English) is presented, where the lines of research developed in the Thesis and the main results obtained in each publication are indicated.

Epigraph 2. The general and specific objectives of the research are detailed (also written in English).

Epigraph 3. The background and state of the art are described. The objective of this section is to generate a conceptual framework that will help the reader and to collect the most recent research on the object of study of the Thesis.

Epigraph 4. The publications that compose this Thesis are shown in this epigraph. Each of them is preceded by a complete summary in Spanish that contains a brief introduction, the materials and methods used, the most relevant results and discussions and, finally, the main conclusions.

Epigraph 5. The most relevant conclusions of the Thesis, derived from each line of research, are collected. Likewise, future lines of research are proposed, based on the results obtained (also written in English).

Epigraph 6. The bibliographic references consulted throughout the development of the Thesis Report are cited.

Annexes. Impact factor of the four publications is indicated in Annex I; abbreviations, figures and tables indices are presented in Annex II; and, finally, Annex III contains the abbreviated curriculum vitae of PhD student Cristina Romero Trigueros.

CAPÍTULO I. RESUMEN

I. RESUMEN

La población mundial alcanzará unos 10.000 millones de personas en 2050, según recientes proyecciones (ONU, 2017). Para satisfacer la demanda de alimentos, la agricultura necesitará producir casi el 50% más en 2050 que en 2012. Así pues, el incremento de la productividad agrícola de una manera sostenible, conservando el agua y previniendo la contaminación del suelo debe de ser, actualmente, uno de los principales retos de la investigación agronómica a nivel de ecosistema.

Es sabido que el agua es el factor de producción más limitante (CE, 2017), especialmente en áreas semiáridas, como la del Mediterráneo, donde el agua de riego no está siempre disponible debido a su escasez (Pedrero et al., 2015). Al mismo tiempo, las predicciones actuales sobre el cambio climático señalan que en el sur de Europa las olas de calor extremo y la reducción de las precipitaciones y del agua disponible limitarán más aún la productividad agraria dado que se está incrementando la frecuencia e intensidad de los periodos de sequía (García-Galiano et al., 2015; FAO, 2016).

El uso de fuentes de agua no convencionales como el agua regenerada (AR) y de estrategias de riego deficitario controlado (RDC) podrían ser alternativas adecuadas para los agricultores. En este sentido, el AR puede ser beneficiosa para los cultivos dado que la presencia de macronutrientes (N, P, K) puede ayudar a reducir los requerimientos de fertilizantes, como el nitrato, dando lugar a importantes ahorros (Pedrero et al., 2013). No obstante, se requiere una gestión adecuada y cuidadosa del N para que sea absorbido por la planta y no se lixivie, contaminando así el suelo y los acuíferos (Laslo et al., 2012).

En Murcia, una región agronómica semiárida, el 93% del AR tiene una conductividad eléctrica por encima de $2 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ y un 37% por encima de $3 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$, según datos de ESAMUR. La salinidad está entre los factores ambientales más importantes responsables de pérdidas sustanciales de producción en la agricultura a nivel mundial y es uno de los problemas más serios que confronta la viabilidad a largo plazo de la agricultura en sistemas de producción regados con AR en regiones semiáridas. Esto es un inconveniente especialmente en cítricos, dado que son uno de los cultivos, más significativos a nivel mundial, considerados sensibles a la salinidad (Al-Yassin, 2005) y a la acumulación de boro (B) (Grattan, 2015).

Entre los efectos más destacados de las altas concentraciones de estos fitotóxicos se encuentra el cierre estomático (Gimeno et al., 2012), que reduce la disponibilidad de CO₂ para la fotosíntesis (García-Sánchez y Syvertsen, 2006) y aumenta la acumulación de iones (Brumos et al., 2009; Mouhaya et al., 2010) y el daño en las hojas, lo que generalmente conduce a una reducción en la producción total de fruta (Murkute et al., 2005). Por consiguiente, el B y la salinidad pueden limitar la viabilidad a largo plazo del uso de AR en cítricos a medida que aumenta el tiempo de exposición a los mismos. El conocimiento del papel que desempeñan la fenología, la capacidad fotosintética, así como el estado hídrico de la planta en la función fisiológica, y sus interacciones durante el ciclo de cultivo, es clave para evaluar la productividad de los árboles frutales (Mirás-Ávalos et al., 2011) y para la caracterización del impacto de las distintas prácticas agronómicas.

En este sentido, la presente Tesis Doctoral trata de evaluar la respuesta agronómica y fisiológica de los cítricos al riego con AR combinado con RDC.

Los ensayos se llevaron a cabo en una finca comercial de cítricos, localizada en el noreste de la región de Murcia, a 7 km de Molina de Segura (38°07'18''N, 1°13'15''W) (Figura I.1) con un clima BSk, según la clasificación de Köppen-Geiger (Peel et al., 2007) durante el periodo 2012-2015.

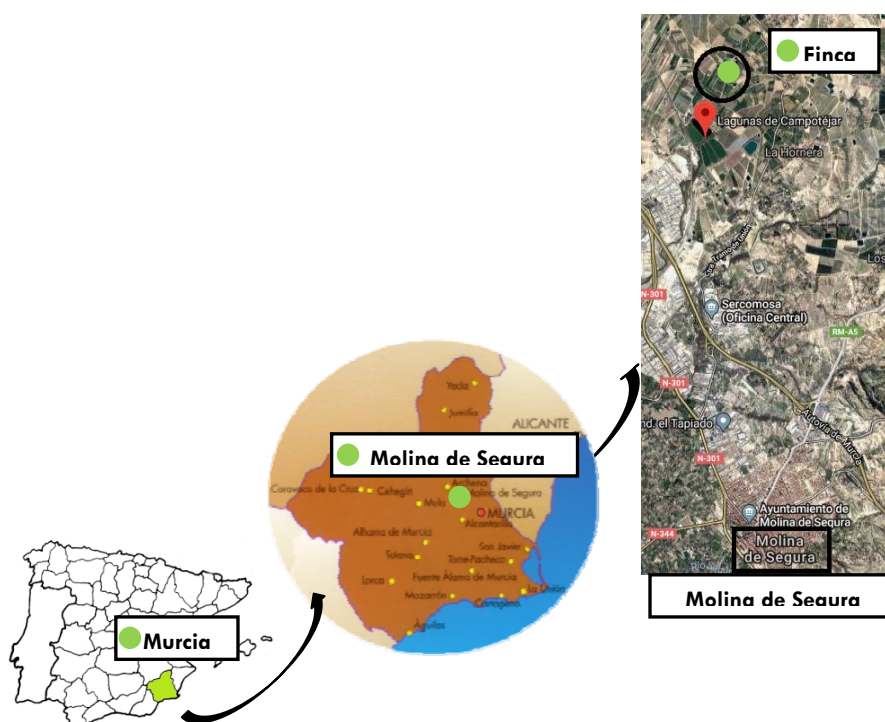


Figura I.1. Ubicación de la finca comercial de cítricos ensayada, localizada en Molina de Segura, Murcia ($38^{\circ}07'18''\text{N}$, $1^{\circ}13'15''\text{W}$). Fuente: Adaptada de Google map.

La parcela experimental de 1 ha fue cultivada con i) árboles de mandarina (*Citrus clementina* cv Orogrande) plantados en el año 2000 injertados sobre Citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Obs. x *Poncirus trifoliata* L.) con un marco de plantación de 5 x 3,5 m y ii) árboles de pomelo 'Star Ruby' plantados en 2005 (*Citrus paradisi* Macf) injertados sobre patrón *Macrophylla* [*Citrus Macrophylla*] con un marco de plantación de 6 x 4 m.

Se regó con dos fuentes de agua diferentes desde el año 2007. La primera de ellas procedente del trasvase Tajo-Segura (AT), considerada de buena calidad agronómica, y la segunda proveniente de la Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR) del Norte de Molina de Segura (AR), caracterizada por tener un elevado nivel de sales, boro y nutrientes (Figura I.2).

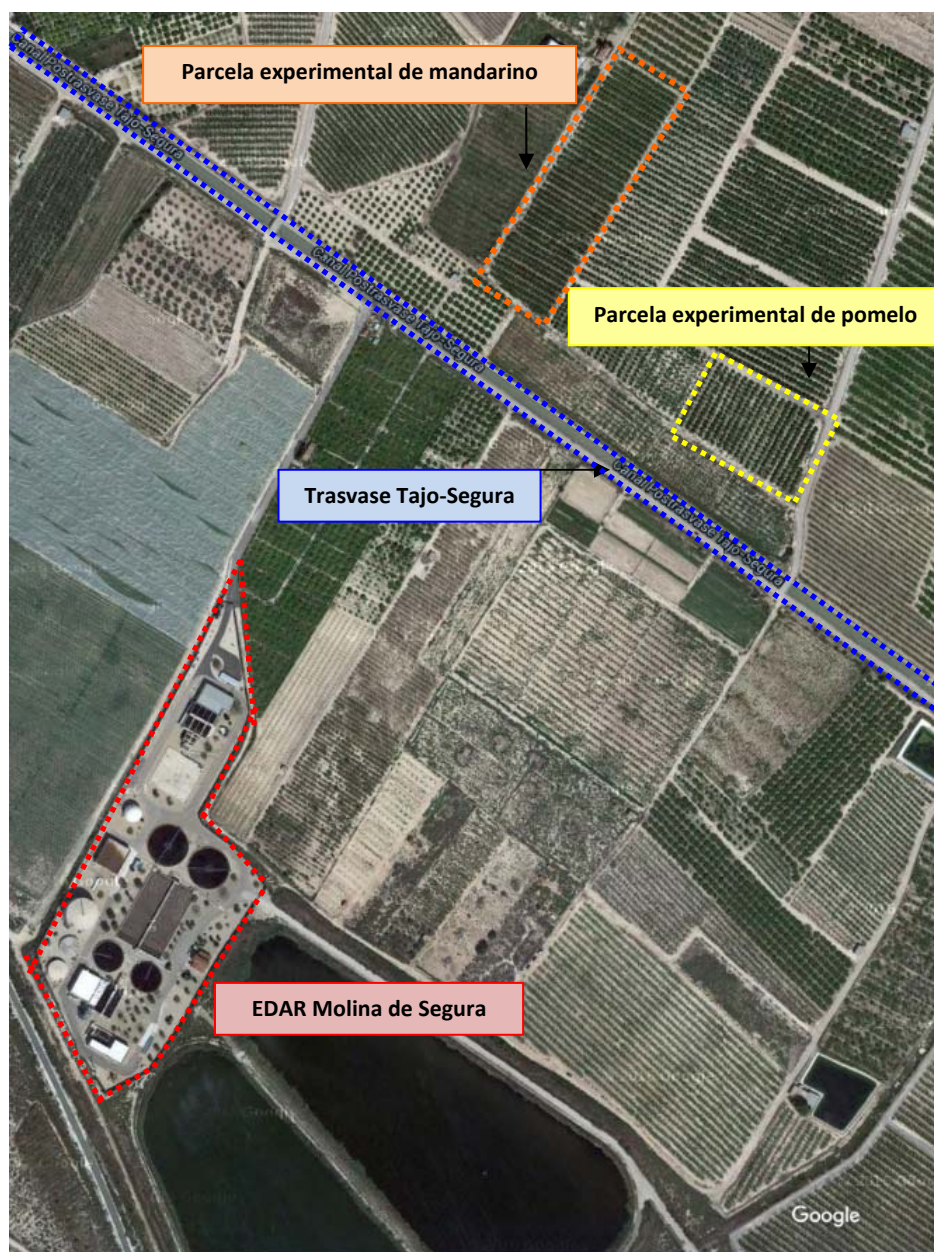


Figura I.2. Vista panorámica de las parcelas experimentales de mandarino y pomelo, el Canal del trasvase Tajo-Segura y la EDAR de Molina de Segura Norte.

Fuente: Adaptada de Google Earth.

Para cada fuente de agua se establecieron dos tratamientos de riego. El primero de ellos fue un tratamiento Control (C), en el cual se regó satisfaciendo completamente las necesidades hídricas del cultivo a lo largo de todo el ciclo (100% ET_c). El segundo fue un tratamiento de Riego Deficitario Controlado (RDC) regado similarmente al C, excepto durante la segunda fase de crecimiento rápido del fruto cuando la cantidad de agua aplicada se redujo a la mitad (50% ET_c).

El riego fue programado en base a la evapotranspiración del cultivo (ET_c) acumulada durante las semanas previas. Los valores de ET_c fueron estimados al multiplicar la evapotranspiración de referencia (ET_0), calculada con la metodología de Penman-Monteith (Allen et al., 1998), por un coeficiente de cultivo local y mensual de acuerdo con Nicolás et al. (2016) para el mandarina y con Pedrero et al. (2015) para el pomelo. El coeficiente de corrección para la cobertura del suelo fue 1, de acuerdo con Fereres y Goldhmaer (1990).

En función de los objetivos de investigación de cada publicación, los ensayos se llevaron a cabo sobre un cultivo u otro (o ambos) y dos o más tratamientos de riego.

La presente Tesis Doctoral se divide en cuatro grandes apartados:

El primero de ellos trata de identificar el indicador más adecuado del estado hídrico de cítricos regados con AR mediante la determinación de parámetros fisiológicos, rasgos estructurales foliares y producción total, así como de determinar los umbrales de fitotoxicidad a nivel de hoja (Publicación 1). Para esta línea se empleó la parcela de pomelo y los tratamientos control de AR y AT.

El segundo apartado se centra en la evaluación del uso de imágenes multiespectrales adquiridas con un sistema aéreo no tripulado (UAV) para detectar cambios estructurales y fisiológicos en cítricos sometidos a estrés hídrico y salino (Publicación 2). Para el desarrollo de este ensayo se utilizaron ambos cultivos (mandarina y pomelo) y todos los tratamientos de riego (AT-C, AT-RDC, AR-C y AR-RDC).

El tercero, comprende un estudio isotópico que pretende mejorar el conocimiento sobre las interacciones entre el N y las sales procedentes del AR mediante la medida de la abundancia natural (δ) de ^{15}N a nivel foliar (Publicación 3). En este experimento se ensayó en la parcela de pomelo y en los tratamientos control de AR y AT.

Por último, el cuarto apartado abarca un análisis de los efectos a largo plazo del riego con AR salina y del RDC en la producción y la calidad de la fruta en el momento de la cosecha y durante su postcosecha en pomelo (Publicación 4).

A continuación, se van a resumir los principales resultados obtenidos para cada uno de los apartados citados anteriormente.

El primer apartado se llevó a cabo estudiando la validez de tres indicadores de la sostenibilidad del uso de agua regenerada salina en cultivos de pomelo (**Publicación 1**). Hay muchos trabajos que analizan el efecto del riego con agua salina en diferentes variedades de cítricos, especialmente en invernadero (Lloyd et al., 1987; García-Sánchez y Syvertsen, 2006; Melgar, 2008; Syvertsen y Melgar, 2010) o incluso en “in vitro” (Montoliu et al., 2009). Sin embargo, son escasos los trabajos donde se utilice agua regenerada salina para el riego de árboles en campo en los que se evalúe la tolerancia a largo plazo de dichos cultivos leñosos, debido al costo y tiempo requeridos para obtener la producción total de fruta durante varias campañas (es decir, varios años). Aquí, se estudia, por primera vez, el uso de AR salina durante cinco años consecutivos en pomelos bajo condiciones de campo midiendo estacionalmente el intercambio gaseoso, el potencial hídrico del tallo (Ψ_s), la caracterización de los rasgos estructurales, el contenido de clorofila y los elementos fitotóxicos a nivel foliar. De todas ellas, las medidas estacionales del contenido de clorofila resultaron ser el mejor indicador de diagnóstico del estrés salino dado que mostraron el mayor número de medidas con diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$, ANOVA) a lo largo del ciclo vegetativo. Asimismo, el contenido de N foliar es un factor determinante en la tasa fotosintética y en el contenido de clorofila. En este sentido, se encontró que efectivamente la clorofila *a* se correlaciona con el N en base al área foliar ($R^2 = 0.63$, $p < 0.001$) y al peso específico foliar ($R^2 = 0.64$; $p < 0.001$). Por lo tanto, la concentración de clorofila en las hojas puede ser también un índice del contenido de N (Daughtry et al., 2000). Además, el nivel de clorofila también estuvo relacionado con los indicadores del estado hídrico de la planta, como el potencial hídrico del tallo, la conductancia estomática y la fotosíntesis. Por otro lado, existe disparidad en relación a los umbrales fitotóxicos foliares para los cultivos de cítricos (Emblenton et al. 1973; Labanauskas y Bitters 1974; Grattan, 2013). En este trabajo se establecieron los límites de Na, Cl y B a partir de los cuales la producción de la cosecha se ve afectada: Na: $0.1 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$, Cl: $0.6 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ y B: 100 ppm. Por último, se observó que la acumulación de sales a nivel foliar podría conducir a posibles riesgos en la sostenibilidad del cultivo a medio y largo plazo.

Tras una caracterización del estado hídrico de la planta, que se logra con medidas a nivel foliar como las presentadas en el trabajo anterior, la ampliación de esta información a nivel de dosel vegetal y parcela incrementa la garantía de éxito de las alternativas estudiadas en esta Tesis (riego con AR y estrategias de RDC). En este sentido, la respuesta multiespectral del dosel vegetal es un método rápido y no

destrutivo que determina, de forma precoz, las señales de estrés de un cultivo (Jones y Vaughan, 2010). La adquisición de esta información con técnicas de control remoto ha demostrado ser útil y económica. Cuando la vegetación es verde y densa, la luz roja (banda espectral R, 600-700 nm) es absorbida en gran medida debido al alto contenido de clorofila, mientras que la luz de la región del infrarrojo cercano (NIR, 700-900 nm) es fuertemente dispersada por las paredes celulares. No obstante, la fiabilidad del enfoque de la teledetección aérea debe todavía ser evaluada con datos reales llevados a cabo en campo, es decir, con medidas directas del estado hídrico de la planta (potencial hídrico de hoja), intercambio gaseoso (fotosíntesis neta y conductividad estomática), contenido de clorofila y estructura foliar (Lelong et al., 2008; Berni et al., 2009b; González-Dugo et al., 2012, Zarco-Tejada et al., 2012, 2013; Gago et al., 2013; Contreras et al., 2014). Entre los factores de estrés más estudiados mediante tecnología UAV se encuentra la sequía (Rodríguez-Pérez et al., 2007; Baluja et al., 2012; Stagakis et al., 2012; Zarco-Tejada et al., 2012; Gago et al., 2015; Pôcas et al., 2015); por el contrario, hay muy pocas investigaciones del estrés causado por la salinidad procedente del AR (Contreras et al., 2014). Asimismo, los estudios que evalúan durante periodos de tiempo prolongados la tolerancia a ambos estreses (salino e hídrico) son muy limitados. En la mayoría de los casos, los indicadores usados para este propósito están relacionados con cambios en la estructura del dosel vegetal a lo largo de las diferentes estaciones del año; sin embargo, son escasos los enfoques relacionados con cambios fisiológicos diurnos a lo largo de un mismo día (González-Dugo et al., 2015), como es el caso de este Trabajo. Por consiguiente, el ensayo presentado en la **Publicación 2** es el primero en evaluar los efectos de la exposición prolongada (ocho años) al riego con AR y RDC en árboles adultos de pomelo y mandarino bajo condiciones de campo mediante medidas i) del estado hídrico de la planta, intercambio gaseoso y clorofila foliar para obtener datos de campo reales y ii) multiespectrales adquiridas con un UAV. Además, se evaluó la utilidad de las imágenes multiespectrales para determinar los cambios estructurales y fisiológicos diurnos en cultivos de cítricos bajo estrés hídrico y salino. La campaña de vuelo se realizó el 7 de julio del 2015 y se llevaron a cabo dos vuelos aéreos (AF): el primero a las 7.00 GMT (t_1) y el segundo a las 10.00 GMT (t_2).

Por un lado, se observó que tanto en mandarino como en pomelo, la calidad del agua no afectó al potencial hídrico de tallo (Ψ_s); por el contrario, en pomelo, los tratamientos de RDC sí disminuyeron su Ψ_s , a pesar de la reducción encontrada en los parámetros de intercambio gaseoso. El contenido en clorofila total (Chl T) se redujo

significativamente en los árboles regados con AR (C y RDC) en los dos cultivos. Por otro lado, los datos multiespectrales para el pomelo mostraron que el riego con AR (C y RDC) incrementó la reflectancia en la banda espectral R, de acuerdo con la disminución de clorofila medida, y disminuyó el índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI), como indicador del verdor de la vegetación, en t_1 , en consonancia con la reducción del intercambio gaseoso observada. El NIR respondió al estrés hídrico (RDC), independientemente de la calidad del agua, en t_2 . Para el mandarino, el AR aumentó la reflectancia en la banda espectral R respondiendo a la disminución de clorofila, pero sólo en t_1 ; cuando el déficit de presión de vapor aumentó (t_2), el turgor de hoja de los tratamientos regados con AR se incrementó de manera significativa afectando a la reflectancia de R (los pigmentos de clorofila absorben la radiación R y el aumento de turgor y grosor de hoja disminuyó dicha absorción, dando lugar a que la reflectancia del R no aumentara lo esperado, según los datos de clorofila medidos). Esto no ocurrió en pomelo dado que la aplicación de AR en dicho cultivo no dio lugar a un incremento de turgor significativo. El NDVI en mandarino disminuyó en los tratamientos de RDC (AT y AR) y el NIR, al igual que lo observado en pomelo, respondió al estrés hídrico de la planta (concretamente, el Ψ_s). Las siguientes correlaciones significativas entre los parámetros de las medidas multiespectrales y las medidas a nivel foliar corroboran lo citado anteriormente:

En pomelo: R con Chl T y turgor de hoja; NIR con Ψ_s e intercambio gaseoso; y NDVI con el intercambio gaseoso.

En mandarino: R con Chl T (t_1); NIR con Ψ_s e intercambio gaseoso; y NDVI con Ψ_s .

Se concluye, por consiguiente, que las imágenes multiespectrales utilizando un UAV, son una herramienta útil para detectar cambios en las propiedades fisiológicas y estructurales de cítricos sometidos a estrés salino e hídrico.

Respecto al apartado siguiente, los efectos del riego con AR salina sobre el ciclo del N en los agroecosistemas, son relativamente poco conocidos. En este sentido, los métodos relativos a la medida de isótopos estables pueden ser una herramienta eficaz para avanzar en la comprensión de las relaciones entre las plantas y su entorno. El enriquecimiento del isótopo ^{15}N en hoja ($\delta^{15}\text{N}$) viene determinado por la relación de los isótopos de la fuente de N externa y de los mecanismos fisiológicos internos de la planta (Evans, 2001) tales como el fraccionamiento de $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ durante la asimilación del N, su translocación por las diferentes partes de la planta y/o su pérdida en el

ecosistema por lixiviación. Hay estudios que han evaluado el efecto del estrés hídrico/salino y/o de los aportes de nitrógeno en la composición isotópica del N de la planta en cultivos de cereal (Khelil et al., 2013^a, b) o plántulas de pino (Marañón-Jiménez et al., 2013). Sin embargo, son escasos los estudios del $\delta^{15}\text{N}$ en cultivos leñosos regados durante largos periodos de tiempo (es decir, varios años) con agua salina debido al elevado costo y tiempo requerido. La **Publicación 3** contiene el primer ensayo que evalúa la sostenibilidad, tras cinco años de riego con AR combinado con RDC, en árboles de pomelo bajo condiciones de campo mediante medidas isotópicas para explicar las relaciones entre la salinidad y la abundancia natural de ^{15}N y evaluar la utilidad del $\delta^{15}\text{N}$ como integrador fisiológico e indicador de la eficiencia en el uso del nitrógeno. La investigación llevada a cabo en esta publicación demostró que los árboles de pomelo regados con AR, sobre todo el tratamiento sin restricciones hídricas, presentaron valores significativamente más elevados de $\delta^{15}\text{N}$ foliar que los regados con agua de buena calidad agronómica. Se encontró una correlación positiva entre el $\delta^{15}\text{N}$ y el contenido foliar de Na y Cl^- sugiriendo que hay vínculos causales entre los niveles de $\delta^{15}\text{N}$ y el estrés salino. Además, el exceso de nitratos procedente del AR se perdió en el ecosistema por lixiviación, desnitrificación, etc., enriqueciendo el medio con $\delta^{15}\text{N}$ e incrementando el valor de $\delta^{15}\text{N}$ en las plantas. Se destaca el papel clave que pueden jugar las sales procedentes del AR en la absorción de N por parte de la planta y, consecuentemente, en la discriminación isotópica del N foliar. En resumen, esta publicación demuestra la utilidad de la discriminación isotópica del N como un indicador de sostenibilidad y de la eficiencia del N a medio y largo plazo.

El último apartado recoge los datos sobre la producción y la calidad del fruto como último elemento a evaluar con el objeto de cerrar el ciclo de estudio de la viabilidad del uso de AR y estrategias de RDC en cultivos de cítricos. En este sentido, se ha demostrado que el RDC puede mejorar la calidad de la fruta en los cítricos (García-Tejero et al., 2010). Sin embargo, una gestión inadecuada del riego con AR puede impactar negativamente en la producción y en la calidad de los cítricos (Nicolás et al., 2016). Asimismo, dado que el mantenimiento de la calidad de la fruta una vez cosechada depende no sólo de las condiciones del almacenaje sino también de los factores agronómicos previos, como la calidad del agua y las estrategias de riego, en la **Publicación 4** se evaluaron los efectos del estrés salino e hídrico en la producción y calidad de frutos de pomelo en cosecha y también en postcosecha durante un periodo de almacenaje en frío. Son pocos los estudios que evalúan la calidad de la fruta en postcosecha tras haber sido regados con RDC son muy escasos (ej. Conesa et al., 2014)

y, en el caso de regados con AR, no se conoce ninguno. Por tanto, el Trabajo aquí presentado es el primero que evalúa la calidad de los frutos de árboles de pomelo regados con AR y RDC durante ocho años consecutivos, en el momento de la cosecha y durante un periodo de postcosecha de 31 días. Se observó que el tratamiento de RDC disminuyó el volumen del dosel vegetal, la carga de fruto y, por tanto, la producción total. Sin embargo, el AR no afectó a la producción total, aunque disminuyó ligeramente el diámetro de fruto. A pesar de los parámetros mencionados, ni el cociente producción total/volumen dosel vegetal ni la productividad del agua de riego fueron afectadas por las restricciones hídricas impuestas bajo RDC. La combinación del AR y el RDC dio lugar a un incremento de frutos de menor calibre (categoría 5) al final de la postcosecha. Por último, tanto el RDC como el AR incrementaron los sólidos solubles totales, mejorando así el sabor del zumo.

En general, se concluye que el uso de AR y RDC en cítricos pueden ser dos alternativas adecuadas en regiones con escasez hídrica siempre que se gestionen de manera adecuada y se evalúe periódicamente la sostenibilidad del cultivo.

CHAPTER I. SUMMARY

I. SUMMARY

World population will reach 10,000 million in 2050 by recent projections (ONU, 2017). To meet the demand for food, agriculture in 2050 will need to produce almost 50% more than in 2012. Thus, the increase of agricultural productivity in a sustainable way, conserving water and preventing soil contamination must be, currently, one of the main challenges of agronomic research at the ecosystem level.

It is known that water is the most limiting factor of production (CE, 2017), especially in semi-arid areas, such as the Mediterranean, where irrigation water is not always available due to its scarcity (Pedrero et al., 2015). At the same time, current predictions on climate change indicate that extreme heatwaves and the reduction of rainfall and available water in southern Europe will limit agricultural productivity as the frequency and intensity of drought periods is increasing (García-Galiano et al., 2015, FAO, 2016).

The use of unconventional water sources such as reclaimed water (RW) and strategies of regulated deficit irrigation (RDI) could be suitable alternatives for farmers. In this sense, RW can be beneficial for crops since the presence of macronutrients (N, P, K) can help reduce fertilizer requirements, such as nitrate, leading to significant savings (Pedrero et al., 2013). However, an adequate and careful management of the N is required so that it is absorbed by the plant and is not leached contaminating the soil and aquifers (Laslo et al., 2012). In Murcia, a semi-arid agronomic region, 93% of the RW has an electrical conductivity above $2 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ and 37% above $3 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$, according to recent data from ESAMUR. Salinity is among the most important environmental factors responsible for substantial losses of production in agriculture worldwide and is one of the serious problems confronting the long-term viability of agriculture in production systems irrigated with RW in semi-arid regions. This is a disadvantage, especially in citrus fruit, as they are one of the most significant crops worldwide considered sensitive to salinity (Maas, 1993; Al-Yassin, 2005) and to the accumulation of boron (B) (Grattan, 2013).

The primary effect of the high concentrations of these phytotoxics is stomatal closure (Gimeno et al., 2012), which reduces the availability of CO_2 for photosynthesis (García-Sánchez y Syvertsen, 2006) and increases the accumulation of ions (Brumos et al. al., 2009; Mouhaya et al., 2010) and leaf damage, which generally leads to a reduction in total fruit production (Murkute et al., 2005). Therefore, B and salinity can

limit the long-term viability of the use of RW in citrus fruits as the time of exposure to them increases. The knowledge of the role played at the leaf level by the phenology, the structure and the photosynthetic function, as well as the hydric state of the plant in the physiological function, and their interactions during the crop cycle is important to evaluate the productivity of fruit trees (Mirás-Ávalos et al., 2011) and for the characterization of the impact of the different agronomic practices.

In this sense, the Doctoral Thesis tries to evaluate the agronomic and physiological response of citrus fruits to irrigation with RW combined with RDI.

The experiments were carried out in a commercial citrus farm, located in the northeast of the region of Murcia, 7 km from Molina de Segura ($38^{\circ}07'18''\text{N}$, $1^{\circ}13'15''\text{W}$) (Figure I.1) with a BSk climate, according to the Köppen-Geiger classification (Peel et al., 2007) during the period 2012-2015.

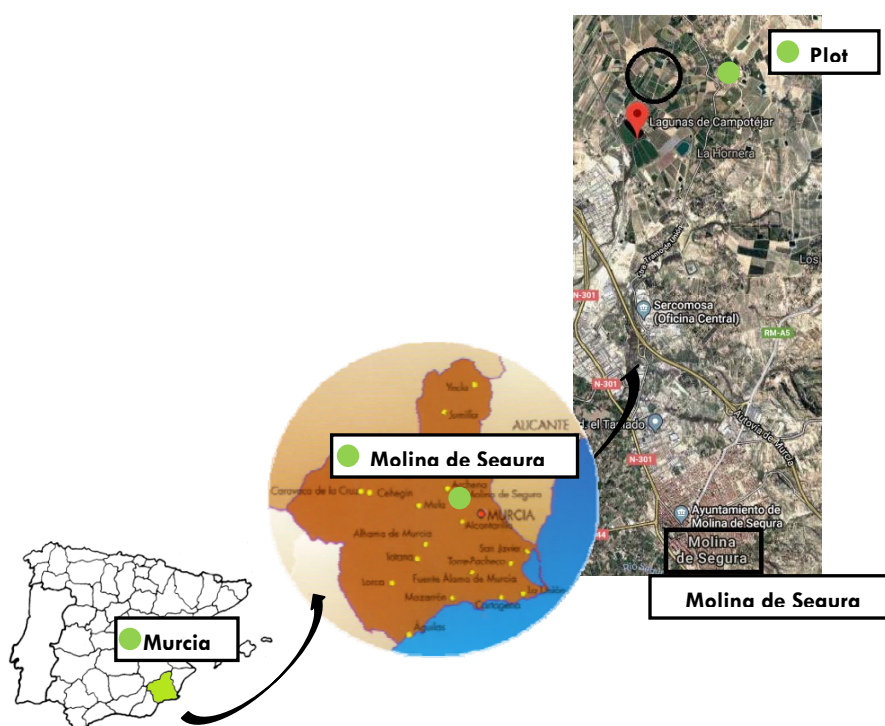


Figure I.1. Situation of the experimental citrus crop, located in Molina de Segura, Murcia ($38^{\circ}07'18''\text{N}$, $1^{\circ}13'15''\text{W}$). Source: Adapted from Google Earth.

The experimental plot of 1 ha was cultivated with i) Star Ruby grapefruit trees planted in 2005 (*Citrus paradisi* Macf) grafted on a Macrophylla [*Citrus Macrophylla*] pattern with a 6 x 4 m planting frame and ii) mandarin trees (*Citrus clementina* cv Orogrande) planted in 2000 grafted on Carrizo Citrange (*Citrus sinensis* L. Obs. x *Poncirus trifoliata* L.) with a planting frame of 5 x 3.5 m.

Irrigation was programmed based on crop evapotranspiration (ET_c) accumulated during the previous weeks. The ET_c values were estimated by multiplying the reference evapotranspiration (ET_0), calculated with the Penman-Monteith methodology (Allen et al., 1998), by a local and monthly cultivation coefficient according to Nicolás et al. (2016) for mandarin and to Pedrero et al. (2015) for grapefruit. The correction coefficient for land cover was 1, according to Fereres and Goldmaer (1990).

The experimental plot has been irrigated with two different water sources since 2007. The first one was from the Tajo-Segura Transfer (TW), considered of good agronomic quality, and the second from the wastewater treatment plant (WWTP) of the north of Molina de Segura (RW), characterized by having a high level of salts, boron and nutrients (Figure I.2).

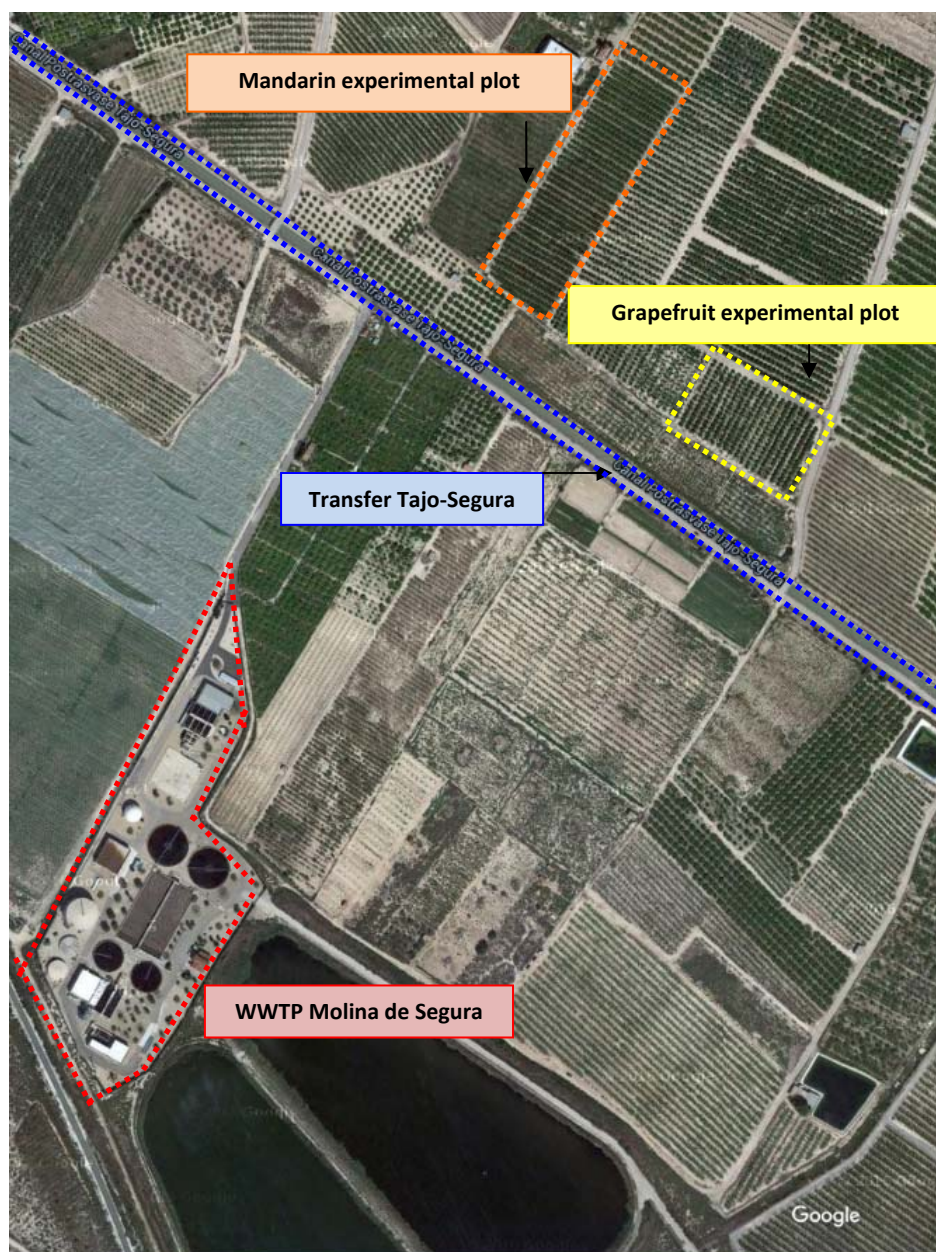


Figura I.2. Panoramic view of the mandarin and grapefruit experimental plots, the Tajo-Segura transfer canal and the Molina de Segura WWTP. Source: adapted from Google Earth.

For each water source, two irrigation treatments were established. The first was a Control irrigation (C) satisfying completely the water needs of the crop ($100\% ET_c$) throughout the entire crop cycle. The second was a Regulated Deficit Irrigation treatment (RDI) irrigated similarly to C, except during the second phase of rapid fruit growth when the amount of water applied was reduced by half ($50\% ET_c$).

Depending on the research objectives of each publication, the trials were carried out on one crop or another (or both) and two or more irrigation treatments.

The present Doctoral Thesis is divided into four major sections:

The first of them tries to identify the most adequate indicator of the water status of citrus fruits irrigated with RW by determining physiological parameters, structural traits at leaf level and total production, as well as by determining leaf phytotoxicity thresholds (Publication 1). For this research line, the grapefruit plot and the RW and TW control treatments were used.

The second section focuses on the evaluation of the use of multispectral images acquired with an unmanned aerial system (UAV) to detect structural and physiological changes in citrus fruits subjected to water and saline stress (Publication 2). For the development of this test both crops (grapefruit and mandarin) and all irrigation treatments (TW-C, TW-RDI, RW-C and RW-RDI) were used.

The third includes an isotopic study that aims to improve knowledge about the interactions between nitrogen and salts from RW by measuring the natural abundance (δ) of ^{15}N at leaf level (Publication 3). In this experiment, it was tested in the grapefruit plot and in the control treatments of RW and TW.

Finally, the fourth section covers an analysis of the long-term effects of irrigation with saline RW and RDI in the production and quality of the fruit at harvest and during its post-harvest in grapefruit trees (Publication 4).

Next, the main results obtained for each of the sections mentioned above. are summarized.

The first section was carried out studying the validity of three indicators of the sustainability of the use of saline RW in grapefruit crops (Publication 1). There are many studies that analyze the effect of irrigation with saline water in different citrus varieties, especially in greenhouses (Lloyd et al., 1987; García-Sánchez y Syvertsen, 2006; Melgar, 2008; Syvertsen y Melgar, 2010) or even “in vitro” (Montoliu et al., 2009). However, there are few works where saline RW is used to irrigate trees in the field in which the long-term tolerance of these woody crops is evaluated, due to the cost and time required to obtain the total fruit production for campaigns of several years. Here, we study, for the first time, the use of saline RW for five consecutive years in grapefruits

under field conditions by seasonally measuring the gas exchange, the stem water potential (Ψ_s), the characterization of the structural features, the chlorophyll content and phytotoxic elements at leaf level. Of all of them, the seasonal measures of chlorophyll content were the best diagnostic indicator of saline stress since they showed the greatest number of measures with significant differences between treatments ($p < 0.05$, ANOVA) throughout the growth season. Likewise, the N leaf content is a determining factor in the photosynthetic rate and the chlorophyll content. In this sense, it was found that chlorophyll *a* correlated with N on the basis of the area ($R^2 = 0.63$, $p < 0.001$) and foliar specific weight ($R^2 = 0.64$, $p < 0.001$). Therefore, leaf chlorophyll content can also be an index of the N content (Daughtry et al., 2000). In addition, the chlorophyll level was also related to the indicators of the plant water status, such as stem water potential, stomatal conductance and photosynthesis. On the other hand, there is disparity in relation to phytotoxic leaf thresholds for citrus crops (Emblenton et al., 1973; Labanauskas and Bitters 1974; Grattan, 2013). In this work the limits of Na, Cl and B are established, from which the production of the crop is affected: Na: $0.1 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$, Cl: $0.6 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ and B: 100 ppm. Finally, it was observed that the accumulation of salts at leaf level could lead to possible risks in the sustainability of the crop in the medium and long term.

After a characterization of plant water state which is achieved with foliar-level measurements such as those presented in the previous work (Publicación 1), the extension of this information at field level increases the guarantee of success of the alternatives studied in this Thesis (irrigation with RW and RDI strategies). In this sense, the multispectral response of the plant canopy is a rapid and non-destructive method that determines, early on, the stress signals of a crop (Jones and Vaughan, 2010). The acquisition of this information with remote control techniques (RS) has proved to be useful and economical. When the vegetation is green and dense, the red light (spectral band R, 600-700 nm) is absorbed largely due to the high chlorophyll content, while the light from the near infrared region (NIR, 700-900 nm) is strongly dispersed by cell walls. However, the reliability of the aerial RS approach must still be evaluated with real data carried out in the field, that is, with direct measurements of the hydric state of the plant (leaf water potential), gas exchange (net photosynthesis and stomatal conductance), chlorophyll content and leaf structure (Lelong et al., 2008; Berni et al., 2009b; González-Dugo et al., 2012; Zarco-Tejada et al., 2012, 2013; Gago et al., 2013; Contreras et al., 2014). Among the most studied stress factors using UAV technology is drought (Rodríguez-Pérez et al., 2007; Baluja et al., 2012; Stagakis et al., 2012; Zarco-Tejada et al., 2012; Gago et al., 2015; Pôcas et al., 2015). On the other hand,

there is very little research on the stress caused by salinity from RW (Contreras et al., 2014). Likewise, studies that evaluate tolerance to both stresses (saline and water) for a long period of time are very scarce due to the cost and time required. In most cases, the indicators used for this purpose are related to changes in the structure of the vegetation canopy throughout the different seasons of the year; however, there are few approaches related to diurnal physiological changes over the same day (González-Dugo et al., 2015), as is the case in this work. Therefore, the trial presented in Publication 2 is the first to evaluate the effects of prolonged exposure (eight years) to the irrigation with RW and RDI on adult grapefruit and mandarin trees under field conditions by means of measures i) of the plant water status, gas exchange and foliar chlorophyll to obtain real field data and ii) multispectral acquired with a UAV. In addition, the usefulness of multispectral imaging was evaluated to determine the structural and physiological diurnal changes in citrus crops under water and saline stress. The flight campaign was carried out on July 7, 2015 and two flights were carried out (AF): the first one at 07.00 GMT (t_1) and the second at 10.00 GMT (t_2).

On the one hand, it was observed that in both mandarin and grapefruit, water quality did not affect the stem water potential (Ψ_s); On the other hand, in grapefruit, RDI treatments did reduce their water potential, despite the reduction found in gas exchange parameters. The total chlorophyll content (Chl T) was significantly reduced in the trees irrigated with RW (C and RDI) in the two crops. On the other hand, the multispectral data for the grapefruit showed that the irrigation with RW (C and RDI) increased the reflectance in the spectral band R, according to the decrease of chlorophyll measured, and decreased the standardized differential vegetation index (NDVI), as an indicator of the greenness of the vegetation, at t_1 , in line with the reduction in gas exchange observed. The NIR responded to water stress (RDI), regardless of water quality, at t_2 . For the mandarin, the RW increased the reflectance in the spectral band R responding to the decrease in chlorophyll, but only at t_1 ; when the vapor pressure deficit increased (t_2), the leaf turgor of the treatments irrigated with RW increased significantly affecting the reflectance of R (the chlorophyll pigments absorb the R radiation and the increase in turgor and thickness of leaf decreased said absorption, giving rise to the reflectance of R not increasing as expected, according to the measured chlorophyll data). This did not occur in grapefruit since the application of RW in said crop did not result in a significant turgor increase. The NDVI decreased in the treatments of RDI (TW and RW) and the NIR, as in grapefruit, responded to the plant water stress (concretely Ψ_s). The following

significant correlations between the parameters of the multispectral measurements and the measurements at leaf level corroborate the aforementioned:

In grapefruit: R with Chl T and leaf turgor; NIR with Ψ_s and gas exchange; and NDVI with gas exchange.

In mandarin: R with Chl T (t_1); NIR with Ψ_s and gas exchange; and NDVI with Ψ_s .

It is concluded, therefore, that multispectral imaging using a UAV is a useful tool to detect changes in the physiological and structural properties of citrus fruits subjected to saline and water stress.

Regarding the following section, the effects of irrigation with saline RW on the N cycle in agroecosystems are relatively unknown. In this sense, the methods related to stable isotopes can be an effective tool to advance in the understanding of the relationships between plants and their environment. The enrichment of leaf ^{15}N isotope ($\delta^{15}\text{N}$) is determined by the ratio of the isotopes of the external N source and the internal physiological mechanisms of the plant (Evans, 2001) such as the fractionation of $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ during the assimilation of N, its translocation by the different parts of the plant and/or its loss in the ecosystem by leaching. There are studies that have evaluated the effect of water/saline stress and/or nitrogen inputs on the isotopic composition of plant nitrogen in cereal crops (Khelil et al., 2013ab) or pine seedlings (Marañón-Jiménez et al. al., 2013). However, studies of $\delta^{15}\text{N}$ in woody crops irrigated for long periods of time (ie, several years) with saline water are rare due to the high cost and time required. Publication 3 contains the first essay to assess sustainability, after five years of irrigation with RW combined with RDI, in grapefruit trees under field conditions using isotopic measures to explain the relationships between salinity and natural abundance of ^{15}N and evaluate the utility of $\delta^{15}\text{N}$ as a physiological integrator and indicator of the efficiency in the use of nitrogen. The research carried out in this publication showed that the grapefruit trees irrigated with RW, especially the treatment without water restrictions, showed significantly higher values of leaf $\delta^{15}\text{N}$ than those irrigated with water of good agronomic quality. A positive correlation was found between $\delta^{15}\text{N}$ and leaf Na and Cl^- content, suggesting that there are causal links between the levels of $\delta^{15}\text{N}$ and saline stress. In addition, the excess of nitrates from RW was lost in the ecosystem by leaching, denitrification, etc., enriching the medium with $\delta^{15}\text{N}$ and increasing plants $\delta^{15}\text{N}$ value. This highlights the key role that salts from the RW can

play in the absorption of N by the plant and, consequently, in the isotopic discrimination of the leaf N. In summary, this publication demonstrates the usefulness of N isotope discrimination as an indicator of sustainability and N efficiency in the medium and long term.

The last section collects the data on fruit production and quality as the last element in order to close the study cycle of the feasibility of the use of RW and RDI strategies in citrus crops. In this sense, it has been demonstrated that the RDI can improve the fruit quality in citrus (García-Tejero et al., 2010). However, inadequate management of irrigation with RW can negatively impact the production and quality of citrus fruits (Nicolás et al., 2016). Also, given that maintaining the quality of the fruit once harvested depends not only on storage conditions but also on previous agronomic factors, such as water quality and irrigation strategies, in Publication 4 the effects of the saline and water stress were evaluated in the production and quality of grapefruit fruits at harvest and also during their cold storage. Studies evaluating postharvest fruit quality after being irrigated with RDI are very scarce (Conesa et al., 2014) and, in the case of irrigation with RW, none is known. Therefore, the work presented here is the first to evaluate the quality of the fruits of grapefruit trees irrigated with RW and RDI for eight consecutive years, at the time of harvest and during a post-harvest period of 31 days. It was observed that the treatment of RDI diminished the volume of the vegetal canopy, the load of fruit and, therefore, the total production. However, the RW did not affect the total production, although the diameter of the fruit decreased slightly. Despite the aforementioned parameters, neither the total production/canopy volume ratio nor the irrigation water productivity were affected by the water restrictions imposed under RDI. The combination of the RW and the RDI resulted in an increase in smaller fruit (category 5) at the end of the postharvest. Finally, both the RDI and the RW increased the total soluble solids, thus improving the flavor of the juice.

CAPÍTULO II. OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

La Tesis Doctoral trata de evaluar la respuesta agronómica y fisiológica de los cítricos al riego con aguas regeneradas (AR) combinado con estrategias de riego deficitario controlado (RDC). Para ello se analizaron sus efectos sobre la planta (fisiología, producción y calidad de la cosecha) y el medio ambiente (acumulación de sales y disponibilidad de nutrientes), además de evaluar, desde un punto de vista integral, su sostenibilidad a medio-largo plazo. La novedad del presente Trabajo radica en el planteamiento experimental utilizado, en donde de forma conjunta se evalúan los efectos acumulados de la estrategia de riego y del uso de AR. Además, se emplean dos de los portainjertos más utilizados en el área Mediterránea: *Citrus Macrophylla* y Citrange Carrizo.

Los objetivos generales son:

- Evaluar la viabilidad del riego con AR a medio largo plazo en cultivos de cítricos, analizando su influencia sobre el crecimiento y producción, así como, en la calidad de las cosechas obtenidas (Publicación 1, 2 y 4).
- Profundizar en el conocimiento de la respuesta de los cítricos al RDC, prestando especial atención a un aspecto novedoso en la aplicación de estas estrategias como es el riego combinado con AR de elevada salinidad. (Publicación 2 y 4).
- Mejorar el conocimiento sobre las interacciones entre el nitrógeno y las sales procedentes del AR y determinar la eficiencia en el uso del nitrógeno del sistema agrario mediante técnicas de discriminación isotópicas (^{15}N). (Publicación 3).

Para lograr cada una de las líneas anteriores, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluación de la viabilidad del uso de AR salina en árboles de pomelo a medio y largo plazo. Publicación 1.

- 1.1 Estudiar qué indicador de sostenibilidad a nivel de planta es el más adecuado para evaluar la fisiología. Para ello, se analizan los cambios ontogénicos y fisiológicos de las hojas a lo largo del ciclo de cultivo y, finalmente, la producción del mismo.
- 1.2 Analizar los elementos fitotóxicos a nivel foliar y estimar los umbrales de toxicidad a partir de los cuales la producción de la cosecha se ve afectada.

2. Estudio de la utilidad de técnicas de teledetección para determinar cambios estructurales y fisiológicos diurnos en cultivos de pomelo y mandarino bajo estrés hídrico (RDC) y salino (AR) a largo plazo. Publicación 2.

- 2.1 Realizar imágenes multiespectrales adquiridas con un sistema aéreo no tripulado (dron).
- 2.2 Determinar el estado hídrico de la planta, el intercambio gaseoso y el contenido de clorofila foliar para obtener datos de campo reales.
- 2.3 Correlacionar los datos obtenidos de los apartados 2.1 y 2.2 para validar el uso de la teledetección como herramienta útil en este tipo de investigación.

3. Determinación de la abundancia natural del isótopo estable ^{15}N para evaluar el uso de AR combinado con RDC en pomelo: Publicación 3.

- 3.1 Medir las variaciones del $\delta^{15}\text{N}$ foliar en relación a las diferentes aguas y estrategias de riego.
- 3.2 Correlacionar estas medidas con la acumulación de elementos fitotóxicos.
- 3.3 Evaluar la utilidad del $\delta^{15}\text{N}$ como indicador de la sostenibilidad y la eficiencia en el uso del nitrógeno del sistema agrario a medio y largo plazo.

4. Análisis de los efectos en la producción y la calidad de la cosecha, así como su conservación durante la postcosecha de pomelos sometidos al riego con AR combinado con RDC a medio y largo plazo. Publicación 4.

- 4.1 Determinar durante tres cosechas el volumen del dosel vegetal, la carga de frutos, la producción total, el peso y diámetro del fruto. Asimismo, medir los siguientes parámetros de calidad del fruto: espesor de corteza, índice de color, contenido en zumo, sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (TA) y cociente SST/TA.
- 4.2 Almacenar los frutos en frío durante un periodo determinado (postcosecha) y evaluar periódicamente los cambios en los parámetros de calidad citados en el punto 4.1.

CHAPTER II. OBJETIVES

II. OBJECTIVES

The Doctoral Thesis tries to evaluate the agronomic and physiological response of citrus fruits to irrigation with reclaimed waters (RW) combined with strategies of regulated deficit irrigation (RDI). To this end, the effects on the plant (physiology, production and quality of the harvest) and the environment (salt accumulation and nutrient availability) were analyzed, as well as evaluating, from an integral point of view, its medium-long term sustainability. The novelty of this work lies in the experimental approach used, which jointly assesses the accumulated effects of the irrigation strategy and the use of reclaimed water. In addition, two of the most used rootstocks in the Mediterranean area are used: *Citrus Macrophylla* and Carrizo citrange.

The general objectives are:

- Evaluate the feasibility of using RW in the medium term in citrus crops, analyzing its influence on growth and production, as well as on the quality of the harvests obtained (Publication 1, 2 and 4).
- To deepen the knowledge of citrus response to RDI, paying special attention to a novel aspect in the application of these strategies, such as combined irrigation with saline RW (Publication 2 and 4).
- Improve knowledge about the interactions between nitrogen and salts from RW and determine the efficiency in the use of nitrogen in the agricultural system by means of isotope discrimination techniques (^{15}N). (Publication 3).

To achieve each of the above lines, the following specific objectives were proposed:

1. Evaluation of the viability of the use of saline RW in grapefruit trees in the medium and long term. Publication 1.

1.1 Study which sustainability indicator at the plant level is the most appropriate to evaluate physiology. To do this, the ontogenetic and physiological changes of the leaves are analyzed throughout the crop cycle and, finally, the production thereof.

1.2 Analyze the phytotoxic elements at leaf level and estimate the toxicity thresholds above which the production of the crop is affected.

2. Study of the utility of remote sensing techniques to determine diurnal structural and physiological changes in grapefruit and mandarin crops under RDI and saline RW in the long term. Publication 2.

2.1 Perform multispectral imaging acquired with an unmanned aerial vehicle (UAV).

2.2 Determine the plant water status, the gas exchange and the leaf chlorophyll content to obtain real field data.

2.3 Correlate the data obtained from sections 2.1 and 2.2 to validate the use of remote sensing as a useful tool in this type of research.

3. Determination of the natural abundance of the stable ^{15}N isotope to evaluate the use of RW combined with RDI in grapefruit: Publication 3.

3.1 Measure the variations of the leaf $\delta^{15}\text{N}$ in relation to the different water qualities and irrigation strategies.

3.2 Correlate these measures with the accumulation of phytotoxic elements.

3.3 Evaluate the utility of $\delta^{15}\text{N}$ as an indicator of sustainability and efficiency in the use of nitrogen in the agricultural system in the medium and long term.

4. Analysis of the effects on the production and quality of the harvest, as well as its conservation during the postharvest of grapefruits irrigated with RW combined with RDI in the medium and long term. Publication 4.

4.1 Determine during three growth season the volume of the vegetal canopy, the load of fruits, the total production, the weight and diameter of the fruit. Also, measure the following parameters of fruit quality: bark thickness, color index, juice content, total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA) and TSS/TA ratio.

4.2 Preserve the fruits for a period of cold storage (postharvest) and periodically evaluate the changes in the quality parameters mentioned in point 4.1.

CAPÍTULO III. ANTECEDENTES Y ESTADO DEL ARTE

III. ANTECEDENTES Y ESTADO DEL ARTE

III.1 RECURSOS HÍDRICOS. PROBLEMÁTICA MUNDIAL.

El agua es esencial para la mayoría de las formas de vida conocidas, incluida la humana, pero es un recurso limitado, ya que tan solo el 3% de toda la masa de agua del planeta es agua dulce. De este 3% la mayor parte no es aprovechable, ya sea porque se encuentra inmovilizada en los casquetes polares y en glaciares o porque se trata de agua subterránea de difícil acceso (FAO, 2016). De hecho, sólo una pequeña cantidad del agua dulce del planeta (aproximadamente el 0,08%) está disponible para el consumo humano. Actualmente, casi un 70% del consumo mundial de agua (y más del 90% del consumo total de agua en las economías menos desarrolladas) se destina a la agricultura, un 23% a la industria y un 8% al consumo doméstico (Sonnen Capital, 2016).

Un aumento de la población requiere un mayor consumo de agua en cantidad y calidad, un incremento de agua embalsada, una mayor explotación de las fuentes de abastecimiento superficial y subterráneo y un incremento de las áreas de riego dado que el agua es un elemento estratégico que estabiliza e incrementa la producción de alimentos. Sin embargo, hoy día el ritmo de expansión de las áreas de riego es inferior al de crecimiento de la población mundial. En este sentido, se estima que la población mundial puede superar los 9.700 millones de habitantes en el año 2050 (CCAFS and FAO, 2014; ONU, 2017) y los 11.200 millones en el año 2100 (Figura III.1) (ONU, 2017), debido principalmente a la explosión demográfica de los países en vías de desarrollo (Figura III.2).

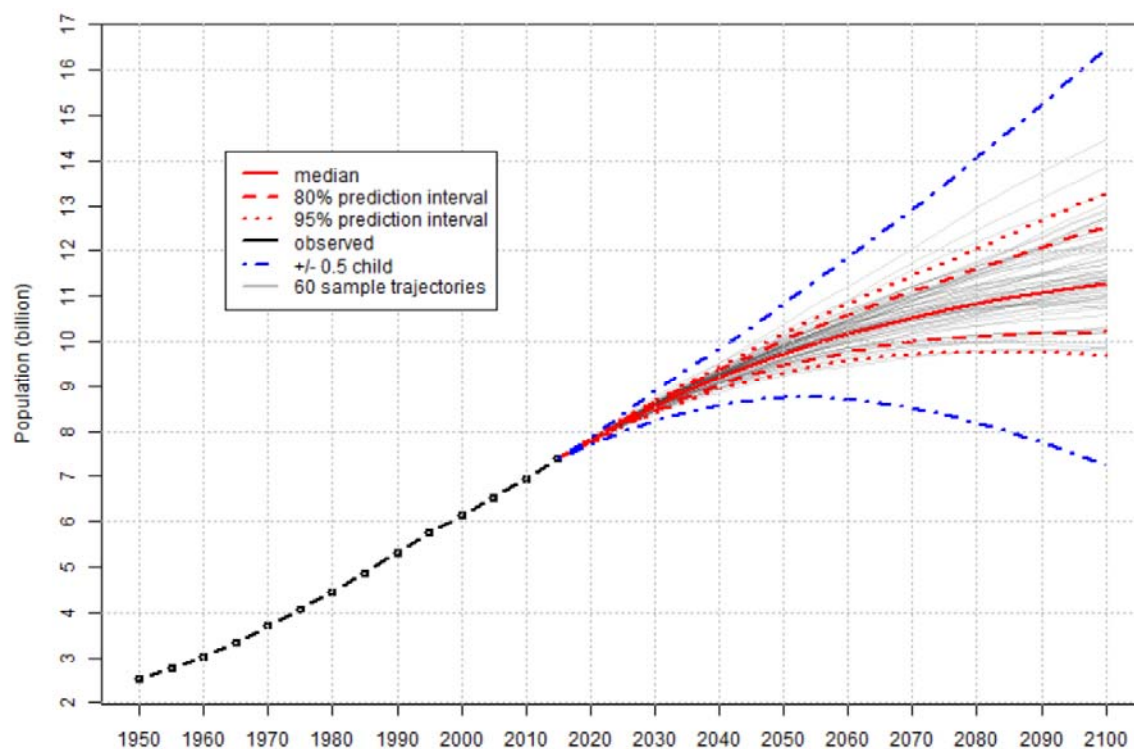


Figura III.1. Crecimiento esperado de la población mundial para el 2100.

Fuente: ONU (2017).

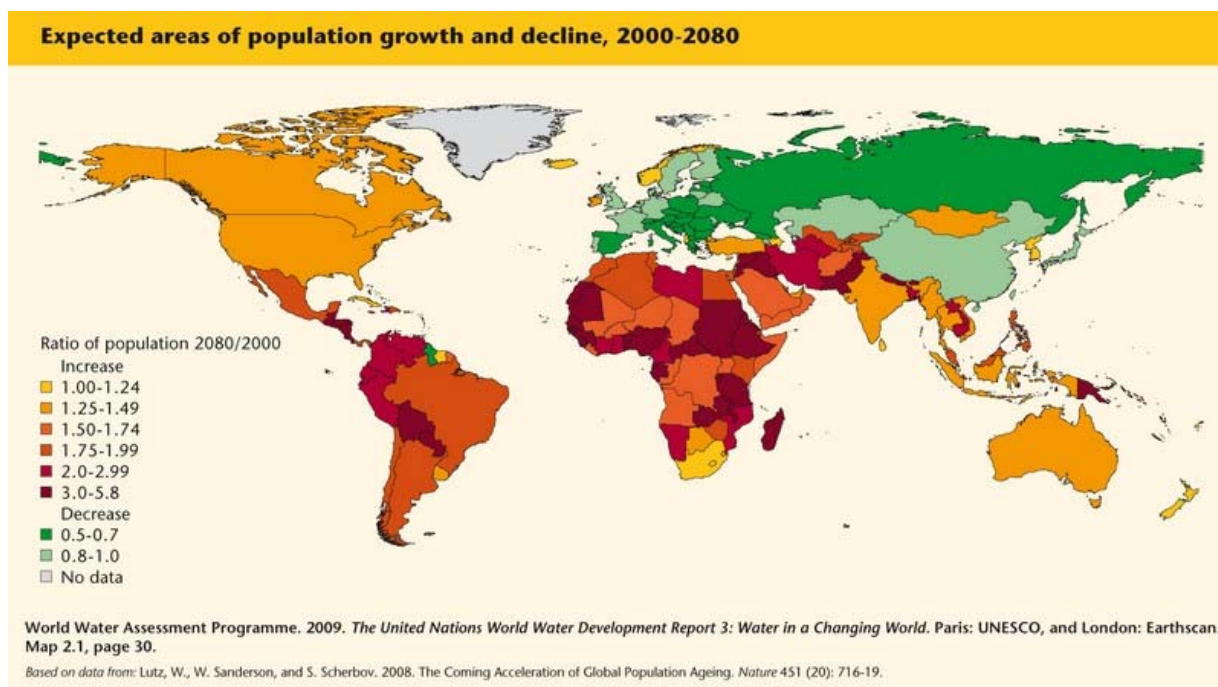


Figura III.2. Áreas previstas de crecimiento y descenso de la población para el 2080. Fuente: World Water Assessment Programme (2009).

Este crecimiento explosivo de la población urbana plantea unos retos sin precedentes (CCAFS and FAO, 2014). La producción mundial de alimentos deberá duplicarse de aquí a 2050 para hacer frente a dicho crecimiento de la población (CE, 2017). Nos enfrentamos, por tanto, a una crisis global según la cual el agua puede convertirse en el recurso más limitante. Todo esto aumenta la necesidad de encontrar soluciones sostenibles a este inevitable problema (CCAFS and FAO, 2014). Además, habrá que abordar las repercusiones del cambio climático (deterioro de la calidad del suelo y del agua, pérdida de biodiversidad, etc.). Por consiguiente, la investigación agrícola debe superar dos retos: la producción de alimentos y, al mismo tiempo, la protección de la naturaleza y la biodiversidad.

En todo el mundo, el empleo del agua y su gestión han sido un factor esencial para elevar la productividad de la agricultura y asegurar una producción previsible. Desde los años 60, la producción mundial de alimentos ha mantenido el paso del crecimiento demográfico mundial, pero a costa de los recursos hídricos. Al final del siglo XX, la agricultura empleaba por término medio el 70% de toda el agua utilizada en el mundo, como se ha mencionado anteriormente, y la FAO estima que la cantidad de agua destinada a riego aumentará un 14% para 2030 (FAO, 2002). Aunque este incremento es muy inferior al registrado en los años noventa, según las proyecciones, la escasez de agua será cada vez mayor en algunas regiones, lo que limitará la producción local de alimentos.

La FAO estima que más del 40% de la población rural del mundo vive en cuencas hidrográficas que se consideran con “escasez de agua” (FAO, 2011). Los países que extraen o retiran más del 25% de sus fuentes de agua fresca renovable se clasifican como “estresados hídricamente”. Si retiran más del 60%, pueden considerarse con “escasez de agua” y si superan el 75% se enfrentan a una “escasez de agua severa” (FAO, 2016). No obstante, el crecimiento en el uso de agua en la agricultura se está desacelerando, en parte debido al mejor rendimiento de los sistemas de riego y las prácticas agrícolas. A pesar de ello, una mejora de la eficiencia en el uso del agua en la agricultura de regadío será fundamental para afrontar las situaciones previstas de escasez de agua.

En España, los recursos hídricos se distribuyen de manera desigual, siendo la cuenca Mediterránea la más deficitaria. En el caso de la Región de Murcia, este déficit de agua es debido principalmente al clima semiárido, con escasas precipitaciones ($303,3 \text{ mm}\cdot\text{año}^{-1}$ de media en el decenio 2007-2016) (CARM, 2017) distribuidas

irregularmente en el tiempo y en el espacio y con una demanda evapotranspirativa muy alta, por lo que la Cuenca del Segura es la que mayor déficit hídrico estructural presenta de todo el territorio nacional (CARM, 2007).

El regadío español consume $24.500 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$ de agua, de las que dos terceras partes proceden de aguas superficiales y una tercera parte de aguas subterráneas. Dado que la presión del regadío sobre el consumo de recursos hídricos es excesiva, sobre todo en la zona mediterránea, en la que existe un mayor desequilibrio entre oferta y demanda de agua, se hace evidente que deben encontrarse alternativas a las fuentes tradicionales, como las aguas regeneradas y desalinizadas, si se pretende mantener estos niveles de consumo (Melián-Navarro y Fernández-Zambudio, 2016).

En la Región de Murcia el regadío constituye, con diferencia, el principal uso del agua en cuanto a volúmenes de recursos hídricos consumidos, y es el motor básico que contribuye al desarrollo socioeconómico (CARM, 2017).

La Región de Murcia, ocupando el 3% de la superficie total de la península, consume el 3,4% del agua total disponible en España (INE, 2008) y es capaz de producir el 20% de las exportaciones de frutas y hortalizas de toda España (FEPEX, 2010).

El Plan Hidrológico de la Demarcación Hidrográfica del Segura (PHDS) (revisión aprobada por el Real Decreto 1/2016, de 8 de enero) estima el déficit de la cuenca en $400 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$ con una consideración expresa a la reutilización de aguas como elemento necesario para dar coherencia a las asignaciones, disponibilidades y regulación de la cuenca (artículo 14 de la revisión del PHDS, 2015/2021).

En este sentido, el último informe-resumen de la “Situación de la sequía hidrológica” emitido mensualmente por el Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA) informa de que el indicador global de la demarcación intercomunitaria del Segura ha cambiado de Alerta a Emergencia, y los subsistemas Cuenca y Trasvase han pasado también, respectivamente, de valores de Prealerta y Emergencia a valores de Emergencia ambos (Figura III.3).

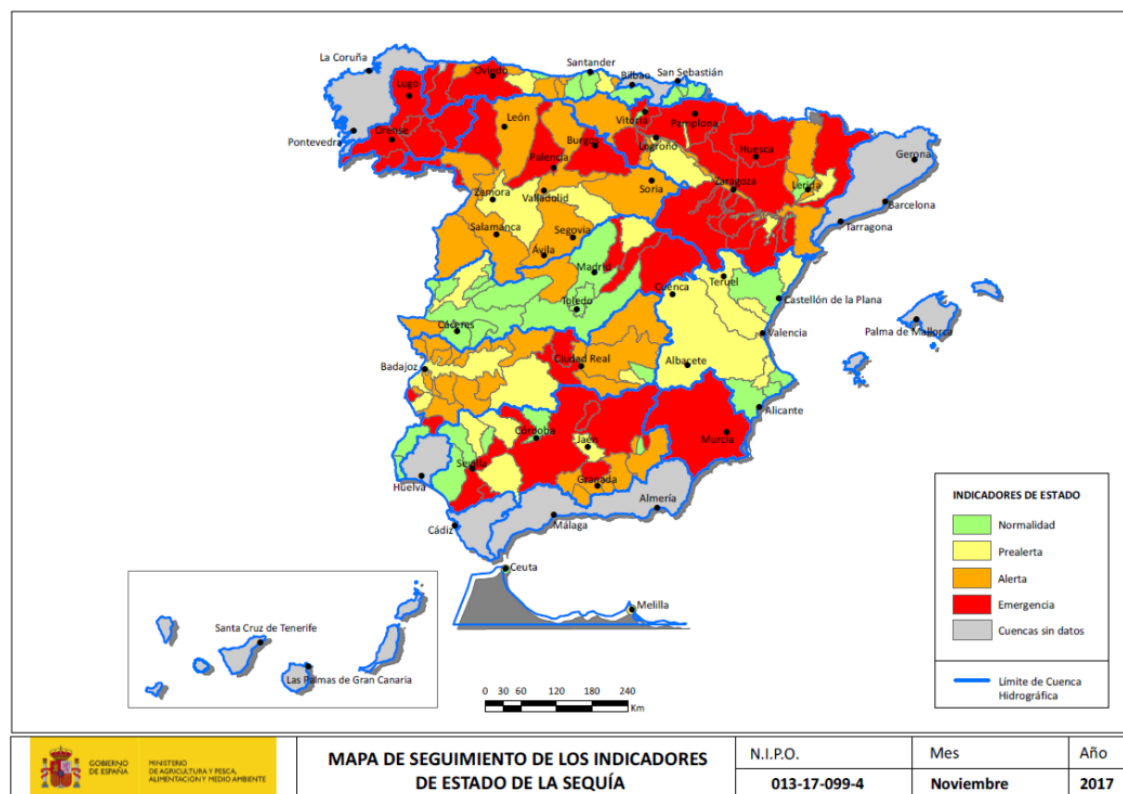


Figura III.3. Situación de los indicadores de estado de la sequía hidrológica a fecha 30 de noviembre de 2017. Fuente: MAPAMA (2017).

Por consiguiente, continúan descendiendo los valores de los indicadores de sequía hidrológica. Concretamente, “el indicador global de la demarcación, en Emergencia desde el pasado mes de abril, vuelve a tener un nuevo mínimo desde que está vigente el Plan Especial de Sequías. Desde junio de 2016 mantiene un descenso mensual continuo, con la única excepción de un pequeño repunte en diciembre de 2016. Este indicador global se compone a su vez de dos subsistemas: el subsistema Trasvase (dependiente de la Cabecera del Tajo), que está en Emergencia desde septiembre de 2016, y continua en su mínimo histórico; y el subsistema Cuenca, que durante el mes de septiembre de 2017 ha entrado también en valores de Emergencia, que no se alcanzaban desde diciembre de 2008. Ante esta situación, el pasado 23 de septiembre se publicó en el BOE el Real Decreto 851/2017, de 22 de septiembre, que prorroga hasta el 30 de septiembre de 2018 la declaración de sequía prolongada para el ámbito territorial de la Confederación Hidrográfica del Segura (anteriormente, el Real Decreto 335/2016, de 23 de septiembre, ya prorrogó hasta el 30 de septiembre de 2017 la situación de sequía), vigente desde la publicación del RD 356/2015. Esta declaración permite adoptar medidas excepcionales para la gestión de sus recursos hídricos” (MAPAMA, 2017).

Por otro lado, en relación a la producción de alimentos, la Unión Europea (UE) es uno de los mayores productores del mundo. Cualquier reducción de los cultivos básicos podría poner en peligro la seguridad alimentaria de la UE y del mundo y elevar los precios de los alimentos, de modo que sería más difícil para muchos grupos de la población mundial acceder a alimentos nutritivos a un precio asequible (EEA, 2015).

Para que la tierra ya destinada a la agricultura produzca más alimentos suele ser necesario utilizar más fertilizantes nitrogenados, los cuales, por un lado, producen emisiones de óxido nitroso contribuyendo al cambio climático y, por otro, liberan un exceso de nutrientes al suelo y acuíferos. Las altas concentraciones de nutrientes (especialmente fosfatos y nitratos) presentes en las masas de agua causan eutrofización, como actualmente sucede en el Mar Menor (Murcia, España). La eutrofización favorece el crecimiento de algas y agota el oxígeno del agua, hecho que tiene graves repercusiones para la vida acuática y la calidad del agua.

Tanto en Europa como en el resto del mundo, satisfacer la demanda creciente de alimentos utilizando más tierra tendría importantes consecuencias para el medio ambiente y el clima. Además, las zonas más adecuadas para la agricultura en Europa ya están cultivadas en gran medida y la tierra, especialmente si es tierra fértil de uso agrícola, es un recurso limitado en Europa y en todo el mundo (EEA, 2015).

En conclusión, es necesario aumentar la producción de alimentos reduciendo el uso de agua y, al mismo tiempo, disminuyendo la dependencia de los fertilizantes agroquímicos para evitar la contaminación por nitratos de las masas de agua (FAO, 2011) y la salinización de las áreas regadas (EEA, 2015).

En este sentido, el uso de agua regenerada para riego agrícola y la aplicación de estrategias de riego deficitario controlado son dos posibles soluciones o alternativas sostenibles a la problemática del agua, y son el objeto de estudio de la presente Tesis Doctoral. En el siguiente apartado se describen en detalle.

III.2 AGUA REGENERADA Y ESTRATEGIAS DE RIEGO DEFICITARIO

III.2.1 Agua regenerada

El agua regenerada (AR) debe considerarse como un recurso no convencional, cuya gestión debe incluirse en una planificación integral de los recursos hídricos, que tenga en cuenta los aspectos económicos, sociales y ambientales. La reutilización puede incrementar los usos del agua, aumentando la disponibilidad de recursos hídricos dado que el AR puede sustituir usos que no requieran una calidad elevada, liberando volúmenes de mejor calidad para otros usos más exigentes. Asimismo, las limitaciones ambientales y las sequías plurianuales han llevado a numerosas poblaciones a plantearse la utilización de AR como fuente adicional de agua para aprovechamientos que no requieran una calidad de agua potable (Melgarejo-Moreno y López-Ortiz, 2016).

Reutilización del agua regenerada

El uso mundial de AR se ha desarrollado muy rápidamente desde 1997, sobre todo en zonas áridas y semiáridas. Actualmente, aproximadamente el 4% de toda el AR es reutilizada en el mundo, lo que representa un volumen de aproximadamente 14,2 millones de hm^3 (Global Water Market, 2017). Los estudios de mercado de reutilización predicen un alto crecimiento en los próximos diez-veinte años. A nivel mundial, el volumen de AR se triplicará en los próximos diez años y, en algunos países, como China, se espera que aumente aún más significativamente. Así, en 2030 se prevé que la reutilización del agua represente el 1,66% del uso total de agua (Global Water Market, 2017).

En la UE, el volumen total de AR reutilizada en 2006 fue de $964 \text{ hm}^3 \cdot \text{año}^{-1}$, representando el 2,4% del agua residual urbana tratada (aproximadamente 1 millón hm^3) y menos del 0,5% de la extracción anual de agua dulce de la UE. Actualmente, se estima el volumen de AR reutilizada en $1.100 \text{ hm}^3 \cdot \text{año}^{-1}$, representando un 0,4% de las extracciones anuales de agua dulce de la UE (CE, 2016a). Sin embargo, el potencial de la UE es mucho más elevado, del orden de 6.000 hm^3 , casi seis veces el volumen actual. Tanto los Estados miembros del sur, como España, Italia, Grecia, Malta y Chipre, y los Estados miembros del norte, como Bélgica, Alemania y el Reino Unido, ya han puesto en marcha numerosas iniciativas sobre la reutilización del agua para el riego (CE, 2016b).

El uso de AR en Europa está condicionado por la geografía. En el sur, el AR se utiliza principalmente para el riego agrícola (44% de los proyectos de aguas residuales) y aplicaciones urbanas o ambientales (37% de los proyectos). En el norte de Europa, el AR se emplea principalmente para las aplicaciones ambientales (51% de los proyectos) y la industria, que representa el 33% de los proyectos (Prats-Rico, 2016).

En el caso de España, la demanda actual de los recursos hídricos se distribuye en diferentes sectores (urbano, agrícola, industrial, recreación, etc.), siendo nuevamente la demanda agrícola la más importante (alrededor de $24.094 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$). En estas condiciones, y especialmente en algunas regiones de España con una situación de déficit estructural de agua, como la cuenca mediterránea, el uso del AR en la agricultura se vuelve muy importante, ya que conduce a una gestión más eficiente de los recursos hídricos.

Respecto a la cantidad de AR reutilizada a nivel nacional, según la CE (2016b) el volumen de AR reutilizada en el año 2006 fue de $438 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$ y, de ellos, $347 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$ fueron destinados a la agricultura, es decir, el 79,2% del volumen tratado. Datos más recientes del Instituto Nacional de Estadística (INE) indican que en 2014 el volumen de AR reutilizada aumentó a $531 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$, de los cuales el 61.3% ($325,5 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$) se destinaron a la agricultura.

En cualquier caso, según BIO (2015) el objetivo de reutilización de agua para España debería ser de $1200 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$ en el actual año 2018.

A nivel regional, la necesidad hace que el mayor número Estaciones de Depuración de Aguas Residuales se hallen en el arco mediterráneo, Andalucía y los archipiélagos de Baleares y Canarias. En estas zonas coexiste una alta demanda urbana y/o agrícola con el agotamiento de las fuentes tradicionales de obtención de agua, debido a la salinización de los acuíferos o a las escasas precipitaciones. Las Comunidades Autónomas que mayores volúmenes reutilizan para el riego agrícola son: Valencia ($113,5 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$) y Murcia ($83,5 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$). Estas dos Comunidades Autónomas suponen el 75,41% de las aguas reutilizadas para un fin agrario, o lo que es igual, el 53,53% del total anual del caudal regenerado en España. Como es lógico, las Comunidades Autónomas con mayor déficit de agua y que, a su vez, dependen de una agricultura intensiva y muy productiva, son las que más invierten en mecanismos para tener fuentes alternativas de agua que complementen a las tradicionales, como es el caso de las AR (CEDEX, 2008).

En relación a las demarcaciones hidrográficas, las del Júcar y del Segura destacan por el gran volumen de agua que reutilizan (Prats-Rico, 2016).

En la demarcación del Segura se han inventariado un total de 206 instalaciones de depuración que tratan las aguas residuales generadas en los municipios de la demarcación, en aplicación de la Directiva 91/271/CEE (MAPAMA, 2016). En Murcia, hay 93 EDAR en operación que originan un efluente de casi $109 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$, según datos actualizados de ESAMUR en el 2017. En el PHDS 2015/21, citado ya en el apartado 3.1, los recursos hídricos totales disponibles (estimados en $1.350 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$), están constituidos por los recursos propios, convencionales y no convencionales, así como por los recursos hídricos externos procedentes de transferencias intercuenas. Dentro de los recursos hídricos no convencionales se incluye la reutilización de AR, que en el PHDS 2015/21 alcanza un total de $136 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$, lo que supone un 10% de los recursos totales disponibles.

La reutilización consiste en la aplicación, para un nuevo uso privativo, de las aguas que han sido sometidas a un proceso de depuración. Hay que distinguir entre la reutilización directa y la indirecta. La reutilización directa es aquella en que el segundo uso se produce a continuación del primero, sin que entre ambos el agua se incorpore a dominio público hidráulico, con los límites necesarios para alcanzar la calidad requerida en función de los usos a que se van a destinar estos recursos (regulados por el RD /2007). En el PHDS 2015/21 se ha estimado la reutilización directa en $86 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$. La reutilización indirecta es aquella en la que se produce el vertido del agua depurada a los cauces de agua y ésta se mezcla con el caudal circulante, con los límites de calidad establecidos por la correspondiente autorización de vertido. En el PHDS 2015/21 se ha estimado la reutilización indirecta en $50 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$. Como se ha citado antes, en el RD 1620/2007, de 7 de diciembre, se establece el régimen jurídico para la reutilización directa de las aguas depuradas en España. La aplicación de este RD trata de aumentar la disponibilidad de los recursos hídricos, permitiendo disponer de agua residual depurada, como recurso alternativo, fundamentalmente en agricultura, y lograr así un incremento del uso de AR (MAPAMA, 2016).

Concretamente, en relación a las cifras de la reutilización de AR en la Demarcación Hidrográfica del Segura, las concesiones de reutilización directa de AR, inscritas y otorgadas por la CHS del MAPAMA (última actualización de noviembre de 2015), y que cuentan con cartografía digitalizada, alcanzan un volumen máximo de $105.438.910 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$ (algo más de $100 \text{ hm}^3\cdot\text{año}^{-1}$). Este volumen puede dividirse

según su uso en: agrario ($96 \text{ hm}^3 \cdot \text{año}^{-1}$) y recreativo ($9 \text{ hm}^3 \cdot \text{año}^{-1}$), es decir casi el 90% de las AR en esta demarcación se destinan a la agricultura. La distribución por Comunidades Autónomas es la siguiente: en la Región de Murcia está otorgado un volumen aproximado de 78 hm^3 ; en la provincia de Alicante, incluida en dicha demarcación, 22 hm^3 ; en la provincia de Albacete casi 4 hm^3 ; y finalmente, en Almería, $0,5 \text{ hm}^3$ (Hernández-López, 2016).

Efectos del agua regenerada en agricultura

El uso de AR para el riego de los cultivos puede tener un impacto directo en la fertilidad y productividad del suelo dado que estas aguas suelen ser ricas en nutrientes (N, P, K) y materia orgánica. De esta forma, se puede reducir el uso de fertilizantes, lo que supondría un ahorro en el uso de abonos (Nicolás et al., 2016). Es decir, se pueden aprovechar dichas aguas de modo que se reduzcan los “inputs” agrícolas, por lo que se produce un efecto medioambiental positivo (menor aporte de nitratos y menos riesgo de contaminación de los acuíferos) y un efecto económico sobre la renta del agricultor (al reducirse el coste de los abonos, que suele ser uno de los principales insumos de los cultivos). Varios estudios han corroborado este beneficio cuantificando tales ahorros. En un ensayo en árboles de mandarina y pomelo regados con AR en la Región de Murcia, ésta cubría el 24% y el 15% de los requerimientos de N_2 y P_2O_5 , respectivamente, y todos los correspondientes de K_2O (Pedrero et al., 2013). También se llevaron a cabo estudios sobre cultivos hortícolas en condiciones de invernadero (tomate, pimiento y calabacín); según la aplicación de fertilizantes, la mayor concentración de nutrientes en el AR en comparación con el agua del trasvase Tajo-Segura, procedente de recursos superficiales, representó un ahorro en N_2 , P_2O_5 , K_2O y CaO del 6, 5, 8 y 40%, respectivamente. Teniendo en cuenta los precios de mercado de los fertilizantes, en términos económicos representó un ahorro de aproximadamente 160 € N ha^{-1} , $150 \text{ € P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1}$, $350 \text{ € K}_2\text{O ha}^{-1}$ y $450 \text{ € CaO ha}^{-1}$ (Pedrero et al., 2014). Otro beneficio es el incremento de la productividad agraria en las tierras áridas propias de zonas de baja pluviometría. Por ello, se podría decir que el uso de AR en la agricultura es una opción de futuro al incrementar la viabilidad técnica y económica de los cultivos en muchas zonas donde la agricultura es una actividad principal pero que, sin embargo, dispone de escasos recursos hídricos (Navarro Caballero, 2010; Nicolás et al. 2011).

Sin embargo, un riego prolongado con AR podría generar determinados problemas ambientales, lo que obliga a aplicar un estricto manejo de este tipo de aguas y frecuentes controles para evitar efectos nocivos. Además, sigue siendo preciso superar las dificultades de su aceptación social, para lo que es imprescindible una gestión adecuada (Candela et al. 2007; Carr et al. 2011). Los inconvenientes se centran en dos aspectos, por una parte en el coste, no sólo del recurso en sí, sino de toda la infraestructura que se requiere para poder ser reutilizada, y, por otra, la respuesta del cultivo, ya que todas las especies no se adaptan por igual a este suministro (el estado del arte de este aspecto se detalla más adelante). Sin embargo, en la práctica se constata que la limitación del uso de AR en la agricultura es debida básicamente por su precio (Montesinos, 2004).

Con la reutilización de AR, no sólo se ayuda a paliar los problemas de escasez de agua en las zonas áridas y semiáridas sino que también se resuelve un problema medioambiental (Alcón et al. 2012b). Puede ocurrir que el AR tenga una mejor calidad que el agua original de la zona, adecuándose de mejor manera a su uso para riego (López-Cuquejo, 2001). Esto se observa al comparar los resultados de una analítica de un AR con los de un agua de pozo en zonas con acuíferos sobreexplotados en los cuales los niveles de boro (B) y sodio (Na) suelen ser más elevados que en AR. Se podría decir, por lo tanto, que la depuración, en ciertas zonas, mejora la calidad de unos recursos hídricos que están naturalmente deteriorados.

Concretando, a continuación se listan una a una las ventajas del uso de AR en la agricultura, según Melián-Navarro y Fernández-Zamudio (2016):

1. Se puede tener una mayor garantía en el suministro, el cual puede ser más constante y seguro, disponiendo del mismo incluso en los periodos de sequía.
2. Representa un aporte continuo de nutrientes para las plantas.
3. Disminuye los gastos de fertilización como consecuencia del aporte de macronutrientes presentes en el AR (principalmente de P y K), como se citó anteriormente.
3. Contribuye a la conservación de recursos hídricos, permitiendo reservar el agua original para otros fines y favorecer el equilibrio ecológico.
4. Aplicadas de forma correcta, son aguas que contribuyen a la regeneración de suelos ubicados en zonas de baja pluviometría, que en el caso español podrían ser en toda la

cuenca mediterránea, y garantiza la continuidad de una actividad tan importante como la agraria.

En cuanto a sus inconvenientes o desventajas por las que estas aguas no se aplican de manera más mayoritaria, destacan (Melián-Navarro y Fernández-Zamudio, 2016):

1. Los agricultores han de dar su apoyo explícito para que puedan ser usadas. Su aceptación depende, por lo tanto, del impacto neto en la renta de las explotaciones y las opciones que les ofrezca el resto de alternativas hídricas.
2. Uno de los principales miedos son los posibles efectos sobre la salud debido a su contenido microbiológico. Surgen dudas sobre la posible transmisión de enfermedades infecto-contagiosas (bacterias y virus).
3. Exigen unas infraestructuras convenientemente diseñadas para que sea factible el tránsito del agua desde las EDAR a las parcelas de riego. Este transporte se convierte con frecuencia en uno de los más difíciles de gestionar y que más encarece el proceso.
4. También generan dudas sobre su capacidad fertilizante. Una carga excesiva de N, P y K puede provocar efectos nocivos sobre el terreno, las plantas y sobre el resto de aguas subterráneas.
5. Su uso requiere de una evaluación previa de diversos parámetros, que hay que saber gestionar: sólidos en suspensión, pH, conductividad, etc. Por ejemplo, si la materia orgánica que tiene el agua es en principio biodegradable, pero no dispone de suficiente oxígeno, no se degradará adecuadamente. Por su parte, una excesiva conductividad por exceso de salinidad origina problemas de permeabilidad en el suelo, y la concentración de ciertos iones Na, Cl, o B provocan diversos daños a los cultivos. El pH del agua, por su parte, puede afectar a la solubilidad de los metales y alterar el equilibrio del suelo. En este sentido, como se ha citado anteriormente, el RD 1620/2007 indica los criterios de calidad que deben cumplir las aguas según su uso (uso urbano, agrícola –en función del tipo de cultivo–, industrial, ambiental o recreativo).
6. Puede darse la presencia de metales pesados (como Cd, Hg o Zn) que tienen claros efectos tóxicos para los cultivos y la salud.
7. La simple presencia de sólidos en suspensión, lo que se percibe como turbidez, provoca deterioros en los sistemas de riego localizado por obturaciones debido a la

formación de biofilm. Además, se pueden formar pequeños depósitos de lodos que generen en el suelo condiciones anaeróbicas.

En cuanto al tipo de cultivo, éste es muy limitante dado que condiciona la frecuencia del riego y la cantidad de agua que debe ser empleada. Cada especie vegetal muestra una tolerancia distinta al contenido en sales y asimila de forma desigual, por ejemplo, el N o el P.

En este sentido, a continuación se va a exponer el estado del arte de los ensayos publicados en relación al riego con AR.

Durante la década de 1970, se iniciaron estudios en áreas de bosques, campos de golf o cultivos de forraje (Bole y Bell, 1978; Burton y Hook, 1979) con el objetivo de aumentar su biomasa. En los años 80, se comenzó a evaluar el efecto del uso de AR en diferentes cultivos: en árboles frutales se llevó a cabo con éxito en manzano (Neilsen et al., 1989a) o en melocotonero (Basiouny, 1984), también en otros cultivos como la vid (Neilsen et al., 1989b) o el algodón (Feigin et al., 1984), y en algunos cereales como el maíz y la alfalfa (Campbell, 1983). Además, su uso también se extendió a especies ornamentales (Hasek, 1986). Más recientemente, se ha continuado también los efectos del uso de AR en hortalizas (López-Cuquejo, 2001) y en cultivos leñosos (por ejemplo, Alcón et al., 2012a).

Más tarde surgió la preocupación por la posible acumulación de elementos fitotóxicos en el sistema suelo-planta, debido a su presencia en la composición del AR. Kalavrouziotis et al. (2005) llevaron a cabo experimentos en cebolla (*Alium cepa*) y lechuga (*Lactuca sativa*) bajo condiciones de invernadero y se observó una acumulación de P en el suelo, y de Mn y Zn en las raíces de la lechuga y las semillas. En otro experimento con brócoli (*Brassica oleracea* var. Italica) y coles de Bruselas (*B. oleracea* var. Gemnifera) bajo las mismas condiciones, el contenido de P, Zn y Cd aumentó significativamente en el suelo. Además, la concentración de metales pesados en las partes comestibles de estos cultivos y su carga microbológica (coliformes fecales y *Escherichia coli*) en el AR de riego fue un factor de alto riesgo sanitario (Kalavrouziotis et al., 2008).

Respecto a la aplicación de AR en los cítricos, al ser objeto de estudio de esta Tesis, se comenta más detalladamente en el siguiente apartado.

Efectos del agua regenerada en cítricos

Varios estudios han mostrado las ventajas y desventajas del uso de AR en cítricos (Zekri y Koo, 1993, 1994; Maurer et al., 1995; Ramos, 1996; Aucejo et al., 1997; Reboll et al., 2000; Lapeña et al., 2002; Meli et al., 2002; Morgan et al., 2008; Pedrero y Alarcón, 2009; Pereira et al., 2011).

Los cultivos cítricos han sido clasificados como sensibles a la salinidad (Maas, 1993). Por ello, las sales y elementos como el B presentes en el AR pueden ser fitotóxicos para los cítricos (Grattan et al., 2013, 2015).

Los efectos fisiológicos del estrés salino en los cítricos incluyen, entre otros, una reducción de la conductancia estomática (García-Sánchez et al., 2007; Arbona et al., 2009), de la tasa de transpiración de la hoja y de la asimilación neta de CO₂ (García-Sánchez y Syvertsen, 2006) causada por una combinación de factores tales como el daño oxidativo, la alteración en la capacidad de transporte de electrones y cambios en la estructura de la hoja y de los cloroplastos (Papadakis et al. al., 2004a, b; Han et al., 2009), etc. La disminución de la tasa fotosintética en cítricos con estrés salino podría asociarse, entre otros, con la menor difusión de CO₂ hacia los estomas (Banuls et al., 1997). Actualmente, se desconoce cómo exactamente las sales ejercen su toxicidad (Pérez-Pérez et al., 2015). No obstante, se sabe que las sales pueden afectar el metabolismo de la planta de dos maneras. La primera es mediante un efecto específico de los iones que causa desequilibrios en la absorción de nutrientes y acumula gradualmente niveles tóxicos de Cl⁻ y Na⁺ en las partes aéreas cuando no tiene lugar la compartimentación de los iones salinos en la vacuola (Al-Yassin, 2005). La segunda es a través de un efecto osmótico. En este sentido, uno de los principales mecanismos que utilizan las plantas para adaptarse al estrés osmótico ejercido por las sales es el ajuste osmótico. Éste mantiene la turgencia foliar necesaria para que los estomas permanezcan abiertos y haya intercambio gaseoso (García-Sánchez y Syvertsen, 2006; Álvarez et al. 2012), ya que el cierre estomático es causado por cambios en la presión de turgencia de las células guarda. Cuando se produce el ajuste osmótico, el potencial osmótico disminuye y, como consecuencia, el potencial hídrico también (Gomez-Bellot et al., 2013). Por lo tanto, la acumulación de solutos disminuye el potencial osmótico foliar y permite a las plantas mantener un gradiente de potencial hídrico favorable a medida que el suelo se vuelve más seco. En cítricos, este tipo de respuestas también han sido descritas aunque, en este caso, no siempre ocurren simultáneamente dado que algunas son dependientes del portainjerto (García-Tejero et al., 2010); es decir, el patrón

donde se injerta la variedad es el que va a determinar la tolerancia o sensibilidad a los diferentes estreses abióticos, incluida la salinidad y la sequía (Syvertsen y Levy, 2005; Navarro et al., 2011; Gimeno et al., 2012). Este aspecto será comentado con mayor detalle en el apartado 3.3.

En los cítricos, el efecto negativo de elevados niveles de sales y de B en la producción y crecimiento de los mismos (contribuyendo al amarilleo y defoliación de los árboles), se debe a que normalmente, en vez de inducir ajustes osmóticos (Levy y Syvertsen, 2004), estos elementos se acumulan gradualmente hasta niveles tóxicos en la zona de la raíz (Melgar et al., 2008, 2009) o en los tejidos foliares (Romero-Trigueros et al., 2014a).

Como se ha mencionado, en la literatura hay bastantes estudios que evalúan la salinidad, pero con iones que no pertenecen directamente a la fuente de agua sino que son inyectados al sistema mediante una solución de NaCl para obtener el tratamiento de riego salino (Maas y Grattan, 1999). En este sentido, se han encontrado muy pocos trabajos sobre la respuesta de los cítricos a la salinidad realizados con sales distintas al NaCl y que evalúen los efectos a largo plazo del uso del AR salina. En la Región de Murcia, se han llevado a cabo estudios sobre el efecto del uso de AR salina en cítricos (mandarino y pomelo), demostrando que el riego a largo plazo con esta composición salina "natural" tiende a acumular sales dentro de la zona de la raíz y a nivel foliar, pudiendo causar problemas de salinidad y acumulación de B en plantas y suelos a largo plazo. Concretamente, Romero-Trigueros et al. (2014a) destacan que después de cinco años de riego con AR (conductividad eléctrica, $CE \sim 3 \text{ dS m}^{-1}$) en pomelo, los árboles mostraron una disminución en los parámetros fisiológicos y en la producción. Otros estudios también sugieren que el B y la salinidad pueden limitar la posibilidad de usar AR para el riego de cítricos (Renboll et al., 2000; Pedrero y Alarcón, 2009; Mounzer et al., 2013; Pedrero et al., 2013; 2014; 2015; Romero-Trigueros et al., 2014a; Grattan et al., 2013, 2015; Nicolás et al., 2016). Para garantizar la sostenibilidad del uso del AR en la agricultura hay que llevar a cabo una adecuada monitorización de las sales en el suelo para evitar la posible reducción de las propiedades agronómicas del mismo y buenas prácticas de manejo (Pedrero et al., 2015).

A pesar de los efectos fisiológicos y agronómicos negativos comentados sobre el uso del AR en cítricos, hay varios estudios que han demostrado ventajas agronómicas aunque en la mayoría de ellos o bien se utilizó AR con una CE por debajo de los umbrales perjudiciales para los cítricos (Parsons et al., 2001 con $CE = 1.10 \text{ dS m}^{-1}$;

Pereira et al., 2011 con $CE = 0.99 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$), o bien se ensayaron en áreas de estudio con suelos bien drenados y con elevadas precipitaciones anuales, como Florida (Morgan et al., 2008, Morgan, 2011, Pereira et al., 2011), o el efecto del AR sólo fue evaluado a corto plazo (experimentos desde varias semanas hasta aproximadamente tres ciclos de cultivo). Maurer y Davies (1993) encontraron que los árboles de pomelo, injertados en *Swingle citrumelo* y regados con AR durante tres años ($CE=1.80 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$), con o sin fertilizante, tenían un volumen de copa y una producción total mayor que los árboles regados con agua de pozo ($CE=0,35 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$). En Pedrero et al. (2015) ($CE\sim 3 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$) se estudió el efecto del AR durante tres temporadas en árboles jóvenes de pomelo y no observaron reducciones significativas en el crecimiento vegetativo ni en el rendimiento. En términos económicos, Maestre-Valero et al. (2016) demostraron que el riego con AR salina durante el periodo 2007-2014 es factible en pomelo, sobre todo cuando el precio del agua convencional supera los $0.16 \text{ €}\cdot\text{m}^{-3}$.

Por otro lado, los ensayos sobre los efectos del AR salina sobre la calidad de la fruta en los cítricos son escasos y la mayor parte proviene de experimentos en los que la sal no pertenece directamente a la fuente de agua, como en el AR, como se ha citado anteriormente (Levy et al., 1978, 1979; Boman 2000, 2001; Pérez-Pérez et al., 2015).

III.2.2 Riego deficitario controlado

A nivel mundial, la mayoría de las zonas de regadío mantienen como criterio de programación del riego satisfacer las necesidades hídricas máximas del cultivo, lo que permite obtener el rendimiento máximo de la explotación pero no la máxima productividad del agua de riego. Esta estrategia resulta insostenible en regiones con escasos recursos hídricos (Cánovas, 2012). Por lo tanto, el principal desafío de la agricultura de regadío es conseguir una mejora en la eficiencia en el uso del agua de riego mediante el diseño de estrategias encaminadas a reducir los consumos de agua y a minimizar efectos adversos en el medioambiente. En este sentido, numerosos estudios han demostrado que el riego deficitario puede conseguir ahorros sustanciales de agua pero su correcta aplicación precisa de un conocimiento riguroso del comportamiento (fenología, fisiología y necesidad hídricas) del cultivo dado que la respuesta al estrés hídrico varía considerablemente entre especies vegetales (Castel y Buj, 1990; Crisosto et al., 2000; Gelly et al., 2003; Girona et al., 2003; Egea et al., 2009; Pedrero, 2011; Pérez-Sarmiento et al., 2016). Además de estrategia de ahorro de agua, tradicionalmente el déficit hídrico también ha sido utilizado tanto por sus implicaciones beneficiosas sobre algunos aspectos de la calidad del fruto, como por su efecto

regulador sobre el vigor vegetativo de la planta. Se destacan los trabajos en: melocotonero (Conejero et al., 2011; Vera et al., 2013), en almendro (Goldhamer et al., 2006; Egea et al., 2013), en granado (Intrigliolo et al., 2013; Laribi et al., 2013) y en cítricos (Treeby et al., 2007; García-Tejero et al., 2010; Ballester et al., 2013; Mounzer et al., 2013; Robles et al., 2017).

Las necesidades hídricas de un determinado cultivo en condiciones no limitantes de agua constituyen una referencia imprescindible en riego deficitario, puesto que los aportes de agua se definen generalmente con respecto a este valor de referencia. Para alcanzar satisfactoriamente los objetivos propuestos al implantar estrategias de riego deficitario en una parcela, es importante que se disponga de un conocimiento amplio sobre la intensidad de déficit hídrico que se debe aplicar para evitar mermas importantes de cantidad y/o calidad de la producción, y la idoneidad de aplicar el déficit hídrico a lo largo de todo el ciclo de cultivo, riego deficitario sostenido (RDS), o en períodos fenológicos concretos, riego deficitario controlado (RDC) (Egea et al., 2009; Cánovas, 2012). El RDC está basado en la reducción de los aportes hídricos en los periodos fenológicos en los que la especie cultivada es menos sensible al déficit hídrico. De este modo, los efectos adversos sobre la producción y la calidad de la cosecha se reducen al mínimo. El RDC se diseñó inicialmente como una herramienta para mejorar el rendimiento y el control del crecimiento vegetativo (Chalmers et al., 1981). Posteriormente, en varias ocasiones se observó que el uso del RDC en frutales, no sólo aumentaba la productividad del agua, sino también las ganancias de los agricultores, por lo que se ensayó en diversos cultivos de regiones semiáridas (Lapeña et al., 2002; Egea, 2008, 2009 y 2012; Pedrero, 2011).

Los procedimientos de programación del riego, ya sea bajo estrategia de RDC o no, están basados en medidas del estado hídrico de la planta a través de la evaluación de indicadores fisiológicos como el potencial hídrico foliar (Mirás-Avalos et al., 2016), conductancia estomática, etc., en el balance hídrico del suelo, mediante indicadores del estado hídrico del mismo como son, entre otros, la sonda de neutrones y las sondas capacitivas, y en estimaciones de las necesidades hídricas del cultivo mediante el cálculo de la evapotranspiración de la planta.

Necesidades hídricas del cultivo

Para el cálculo de las necesidades hídricas se ha de tener en cuenta que la mayor parte del agua consumida por el cultivo es resultado de la combinación de los procesos de transpiración del mismo y de la evaporación que se produce directamente en la superficie del suelo. Esos procesos se dan de forma simultánea, por lo que ambos procesos se engloban en el término evapotranspiración (ET) (Alcobendas, 2014). La evapotranspiración de referencia (ET_0) es un concepto establecido para indicar la cantidad de agua que fluye a la atmósfera de un suelo permanentemente húmedo, y cubierto por un cultivo de referencia (alfalfa o gramíneas, es decir pasto), bien regado, en pleno desarrollo y en buenas condiciones fitosanitarias (FAO 56, Allen et al., 1998). La ET_0 depende exclusivamente de las condiciones meteorológicas (temperatura, humedad relativa, velocidad del viento, etc.).

En cuanto a la evapotranspiración del cultivo (ET_c), ésta es considerada como la evapotranspiración del mismo en función del grado de desarrollo vegetativo y bajo condiciones de disponibilidad suficiente de agua. En términos simples, se trata de las necesidades hídricas potenciales de un cultivo concreto y, por tanto, depende además de los factores ambientales, de las características genéticas del cultivo (follaje, raíces, estructura estomática, etc.) (Alcobendas, 2014).

Por lo tanto, la evapotranspiración de un cultivo será diferente a la ET_0 en la medida en que sus características de cobertura del suelo, propiedades de la vegetación y resistencia aerodinámica difieran de las correspondientes al cultivo de referencia (pasto). Los efectos de las características que distinguen la superficie cultivada de la superficie de referencia se integran en el coeficiente del cultivo (K_c) (Figura III.4). Para determinar ET_c se multiplica ET_0 por K_c , obteniendo la siguiente expresión:

$$ET_c = K_c \cdot ET_0$$

donde ET_c es la evapotranspiración del cultivo ($\text{mm} \cdot \text{día}^{-1}$), K_c es el coeficiente del cultivo (adimensional) y ET_0 es la evapotranspiración del cultivo de referencia ($\text{mm} \cdot \text{día}^{-1}$).

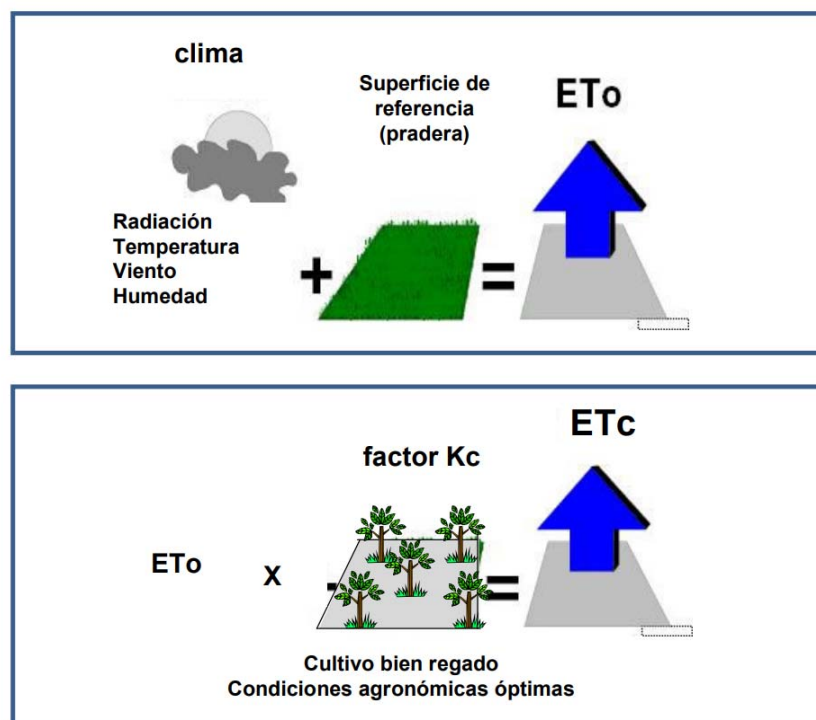


Figura III.4. Evapotranspiración del cultivo de referencia (ET_0) y cálculo de la evapotranspiración del cultivo (ET_c). Fuente: Adaptado de Allen et al. (1998).

Siguiendo la metodología de la FAO en su Manual n° 56 de Riego y Drenaje, se presentan dos enfoques de cálculo del K_c : un enfoque con un coeficiente único donde las diferencias entre el cultivo y el pasto de referencia se combinan dentro de un coeficiente sencillo; y un enfoque dual del coeficiente del cultivo, donde se divide en dos factores que describen por separado las diferencias en la evaporación y en la transpiración entre el cultivo y el pasto de referencia. El procedimiento del coeficiente único de cultivo es el que se utiliza por ser más adecuado para la planificación y diseño de una zona regable.

Existen referencias bibliográficas donde se estiman distintos K_c para una gran variedad de cultivos y distintas condiciones climáticas (González-Altozano y Castel, 1999; Allen y Pereira, 2009; Marsal et al., 2014; Pedrero et al., 2015 y Nicolás et al., 2016)

Para los ensayos realizados en esta Tesis Doctoral el método de cálculo de la ET_0 se ha llevado a cabo mediante la ecuación de Penman-Monteith (FAO 56, Allen et al., 1998).

Efectos del riego deficitario controlado en cítricos

Varias contribuciones han documentado las ventajas de las estrategias de RDC para mejorar tanto la eficiencia en el uso del agua como la calidad del fruto debido a un incremento de los azúcares en el mismo en diferentes especies cítricas como el mandarino (González-Altozano y Castel, 1999; Romero et al., 2006), el naranjo dulce (Castel y Buj, 1990; Pérez-Pérez et al., 2008a; García-Tejero et al., 2010) y el limonero (Domingo et al., 1996; Robles et al., 2017). Asimismo, cuando el RDC se aplica durante la etapa de maduración del fruto se observa una mejora en las características organolépticas del fruto en el naranjo dulce, aumentando los sólidos solubles totales y la acidez sin tener efecto negativo sobre el rendimiento (Pérez-Pérez et al., 2009). Sin embargo, también se han descrito aspectos negativos. Cuando el RDC se aplica durante la etapa de floración y la etapa inicial del crecimiento del fruto en mandarino (Romero et al., 2006) y naranjo dulce (Pérez-Pérez et al., 2008a; García-Tejero et al., 2010) se observó una reducción en el número total de frutos. Además, el RDC aplicado durante la etapa de rápido crecimiento del fruto también afectó al tamaño del fruto y la calidad del mismo tanto en mandarino (Navarro et al., 2010) como en naranjo dulce (García-Tejero et al., 2010).

Por otra parte, la respuesta de los cítricos al RDC no sólo depende del momento fenológico en el que se aplica, sino también la edad del árbol (Pérez-Pérez et al., 2014), del grado de déficit hídrico, del portainjerto (Pérez-Pérez et al., 2008b, 2014; Treeby et al. 2007; Robles et al., 2017) y de la especie (Ballester et al., 2013). En este sentido, dos estudios recientes han mostrado diferentes respuestas de dos variedades distintas, mandarino y naranjo dulce, al mismo RDC (Ballester et al., 2011, 2013). Esto indica que la estrategia RDC no se puede extrapolar y debe diseñarse específicamente para cada especie.

Finalmente, en términos económicos Maestre-Valero et al. (2016) recomiendan el uso de estrategias de RDC con aguas convencionales mientras el precio de la misma sea inferior a $0,38 \text{ €}\cdot\text{m}^{-3}$, a partir de este umbral, el RDC es más rentable con aguas no convencionales como el AR.

III.3 CÍTRICOS

III.3.1 Origen, importancia comercial y taxonomía

Los cítricos (*Citrus* spp. Rutaceae) son actualmente uno de los cultivos comerciales más importantes a nivel internacional. Se han extendido por todo el mundo, siendo su zona de origen las áreas tropicales y subtropicales de Asia (sureste asiático), China, India y el archipiélago de Malasia (MAPAMA, 2017).

En el caso de España, fueron introducidos por los árabes en el siglo X, aunque empezaron a ser valorados como frutales siglos posteriores. La adaptación al clima fue favorable, destacando su cultivo en la zona de levante, como sucede actualmente. Con los años, el fruto del cítrico fue cogiendo fuerza en el campo del consumo, aumentando su producción y registrándose un fuerte incremento a mediados de 1980 (FAO, 2010). La demanda de estos frutos, junto con las mejoras en los procesos de distribución convirtieron a este cultivo en una pieza valiosa a nivel económico que condujo a una gran expansión mundial. Sin embargo, esta acelerada expansión de la producción generó un desequilibrio entre oferta y demanda, ocasionando una disminución de los precios. En la actualidad, una gran parte de la producción se destina a la fabricación industrial de zumos, especialmente en los países con mayor superficie plantada, como Brasil o Estados Unidos. La producción para consumo como fruta fresca es la más exigente en cuanto a la calidad de las variedades. En este campo, España destaca como líder a nivel mundial y se encuentra entre los principales países exportadores de cítricos a nivel mundial y el principal dentro de la UE.

Los cítricos son plantas de clima templado. En estado adulto están formadas normalmente por un tronco único que se ramifica profusamente a una altura de unos 60-80 cm, y forma una copa redondeada y tupida, de hojas persistentes. Su tamaño depende de la propia variedad, del patrón y de las condiciones edafoclimáticas y, por lo general oscila entre los 3 y 7 m de altura. La vida económicamente útil se cifra en unos 30-40 años, si bien hay árboles con más de 100 (MAPAMA, 2011).

El fruto es una baya modificada denominada hesperidio. Su diámetro, variable según la especie y variedad, oscila entre alrededor de los 40-70 mm en los mandarinos y los 100-150 mm en los pomelos. Su forma es normalmente redondeada o achatada. Se distinguen dos partes principales: la corteza y los gajos. En la parte más externa de la corteza, el flavedo, se localizan las glándulas de aceites esenciales y los cloroplastos.

Entre éste y los gajos, se encuentra el albedo, de aspecto esponjoso y de mayor espesor. En los pomelos es muy grueso, mientras que en los mandarinos es delgado. Los gajos están individualizados al estar recubiertos por unas membranas muy finas de tejido parenquimático llamadas septas, que se pueden separar entre sí y del albedo, gracias a un tejido reticular y esponjoso que las rodea. En el interior de los gajos se encuentran las vesículas o pelos epidérmicos, rellenos de zumo, y las semillas. El eje central, que a veces es hueco, procede del eje floral y es de aspecto esponjoso.

Los cítricos pertenecen al orden *Geraniales*, suborden *Geraníneas*, familia *Rutáceas*, subfamilia *Aurantioideas* y tribu *Citrea*, que comprende 3 subtribus. Una de ellas, la *Citrina*, abarca 13 géneros entre los que se encuentran los 3 principales que han dado origen a la citricultura comercial: *Citrus*, *Poncirus* y *Fortunella*, y que se conocen comúnmente con el nombre de agrios (MAPAMA, 2011).

Al género *Citrus* pertenecen las variedades comerciales más importantes y las que son objeto de esta Tesis. Su sistemática es muy compleja. Actualmente no hay acuerdo unánime sobre la taxonomía de los cítricos, aunque son dos las clasificaciones que más se utilizan, la de Swingle que considera 16 especies y la de Tanaka que contempla 162, pero existen otras como la de Hogson que acepta 36. La clasificación de Swingle se aproxima más a la realidad aunque a veces es insuficiente. La de Tanaka es en algún caso demasiado minuciosa y detallista, pero resulta más práctica desde el punto de vista de la taxonomía botánica y, por ello, se utiliza con mayor frecuencia.

La clasificación de Swingle dividió el género *Citrus* en dos subgéneros, *Papeda* y *Eucitrus* que presentan notables diferencias anatómicas, pero sobre todo se distinguen por la comestibilidad de sus frutos. Los del subgénero *Papeda* contienen agregados de aceites esenciales, que proporcionan al jugo un sabor acre y amargo muy desagradable que los hace incomedibles, mientras que los del subgénero *Eucitrus* contienen en las vesículas de la pulpa un jugo más o menos agradable, exento de aceites esenciales, de sabor ligeramente amargo, ácido o dulce. En el subgénero *Eucitrus*, que engloba 10 especies, se encuentran las 8 más importantes desde el punto de vista comercial: *C. medica* L. (cidros), *C. aurantium* L. (naranjos amargos), *C. limon* (L.) Burm. f. (limoneros), *C. aurantifolia* (Christm.) Swing. (limeros), *C. grandis* (L.) Osb. (pummelos o zamboas), *C. sinensis* (L.) Osb. (naranjos dulces), *C. reticulata* Blanco (mandarinos) y *C. paradisi* Macf. (pomelos) (MAPAMA, 2011).

III.3.2 Patrones

En citricultura es muy habitual el uso de patrones (también denominados portainjertos o pie), que aportan a la planta ciertas características deseables (resistencia o tolerancia a suelos salinos o calizos, enfermedades o plagas, sequía o helada, confieren vigor, etc.). Sobre estos patrones se injerta la variedad, que es la planta o árbol que realmente se quiere cultivar (Alcobendas, 2014). Las relaciones hídricas en cítricos han sido bien estudiadas y muchos trabajos muestran que los portainjertos alteran el desempeño fisiológico bajo déficit hídrico (Romero et al., 2006, Magalhães Filho et al., 2009; Forner-Giner et al., 2011) y bajo salinidad (Levy y Syvertsen, 2004; Pérez-Pérez et al., 2015). Por lo que la correcta elección del portainjerto será determinante para que el cultivo reúna el mayor número posible de ventajas según la zona donde se van a ubicar.

Los portainjertos más relevantes hoy en día son (Agrológica, 2013):

- Citranges: El Citrange Carrizo es un patrón vigoroso y productivo, adelanta la entrada en producción y la maduración del fruto. Tolera tristeza, resiste *Phytophthora*, pero no *Exocortis*. Los citranges no son especialmente tolerantes a suelos calizos, dando síntomas de clorosis férrica con contenidos de caliza activa superiores al 8,5-10%, o con 25% de carbonatos totales. Resisten salinidad de hasta 3 dS·m⁻¹ y 350 ppm de cloruros, aunque menos que el patrón mandarino Cleopatra. Al ser híbridos de *Poncirus trifoliata*, el cual tiene gran resistencia al frío, los citranges comparten esta característica. Tienen buena afinidad con todas las variedades de naranjo, mandarino y pomelo y presenta problemas con algunos limoneros, especialmente con los de la variedad eureka.

- Citrumelo: El Citrumelo (híbrido de pomelo y *P. trifoliata*) también apareció en la década de los 70 como patrón más resistente a hongos como *Xyloporosis* entre otros, y resistente a asfixia radicular. Por su acusada sensibilidad a la caliza no ha tenido mayor repercusión. Con todo, tiene la ventaja de conferir a la variedad retraso en la maduración, característica importante si se opta por ganar dinero con variedades tardías. El más empleado es el Swingle citrumelo (CPB-4475).

- *Citrus volkameriana*: Es un híbrido de limonero, el cual induce un gran vigor, y a su vez, la producción de las variedades injertadas sobre este patrón dan las mayores cosechas con diferencia, aunque la calidad parece ser inferior a la de otros patrones. Tiene buena resistencia a la caliza y moderada a la salinidad y, como Citrange, adelanta la cosecha. Como puntos negativos, señalar que es sensible al encharcamiento y al frío.
- Mandarin 'Cleopatra': Su empleo es en los suelos más calizos y/o salinos dado que es el patrón más resistente a la clorosis férrica y a la salinidad. Tiene el inconveniente de que es bastante más sensible a *Phytophthora* que otros, requiriendo de suelos ligeros, con un buen drenaje.
- Forner Alcaide nº 5: Patrón semienanizante, más tolerante a caliza y salinidad que carrizo y adelanta algo más la maduración respecto a carrizo. Tolerante a tristeza, es bastante resistente a *Phytophthora* y a nematodos.
- Forner Alcaide nº 418: Es enanizante, reduciendo en un 75% el tamaño final del árbol, empleándose en plantaciones de alta densidad. Es más resistente a salinidad que carrizo, pero más sensible a caliza, *Phytophthora* y nematodos.
- *Citrus macrophylla* y naranjo amargo. Ambos patrones son sensibles a tristeza si se injertan bajo naranjo, pero tolerantes si se hace sobre limonero. El primero es un híbrido ampliamente empleado en la actualidad por dar una rápida y buena producción. El naranjo amargo es un patrón válido para todo tipo de suelos y, por ello, todavía se continua utilizando aunque es superado por *C. macrophylla*. El naranjo amargo también es conocido por la mala afinidad que tiene con limonero Verna, donde produce el característico miriñaque en la zona de unión del injerto, y por ser sensible a la salinidad.

III.3.3 Especies objeto de estudio

Mandarino

Se trata de un grupo muy extenso, que puede agruparse bajo una única especie, *Citrus reticulata* Blanco, según la clasificación Swingle. En general son árboles de mediano porte, muy ramificados, flor pequeña, abundante y con frecuencia presentan tendencia a la alternancia.

Dentro de esta especie se encuentra la variedad Orogrande que es la ensayada en esta Tesis y pertenece al subgrupo clementina. La variedad en cuestión tiene su origen en Murcia en 1978 y se trata de una mutación espontánea de la variedad Clemenules, siendo la apariencia prácticamente indistinguible. Actualmente en España, la variedad Orogrande está desplazando a la Clemenules principalmente debido a la ventaja comercial que aporta Orogrande ya que permite recolectar un mayor porcentaje de frutos en el primer pase de cosecha. **La variedad Orogrande presenta brotación y floración escalonadas y los árboles son abiertos y productivos. Se adapta bien a las zonas de clima medio a frío, consiguiendo en esas condiciones las mejores producciones, aunque en observaciones realizadas sobre Citrange Carrizo los árboles de la variedad Orogrande se muestran algo más vigorosos y con hojas más anchas que los de Clemenules, sobre todo en los tres primeros años de plantación. Las mandarinas Orogrande presentan un color naranja intenso, son sabrosas y dulces, y muy cómodas de comer tanto por la facilidad a la hora de retirar la piel como en la separación de los gajos. Además presentan un alto porcentaje en zumo, otorgándole una buena calidad (Generalitat Valenciana, 2001).**



Figura III.5. Imagen de la flor y del fruto de la mandarina Orogrande. Fuente: Propia.



Figura III.6. Árbol *Citrus reticulata*, variedad Orogrande. Fuente: Propia.

Pomelo

El pomelo (*Citrus paradisi* Macf.) es la especie de más reciente aparición. En general es un árbol vigoroso, de tamaño grande y redondeado que tolera bien las altas temperaturas y cuya resistencia al frío es similar a la del naranjo dulce. Las hojas van de grandes a muy grandes, con nervios muy marcados y pecíolos con alas amplias. Sus flores son también muy grandes y agrupadas en racimos. El fruto es grande o muy grande y su piel amarillenta a rosada. La pulpa puede presentar diferentes coloraciones, de blanca a rojiza, con gran cantidad de zumo, de sabor ligeramente amargo y refrescante. Se adapta bien a distintas condiciones climáticas, aunque los frutos de calidad se obtienen en áreas de clima caluroso. La entrada en producción es rápida, con producciones elevadas y regulares.

Dentro de esta especie encontramos distintas variedades de pomelos y la ensayada en esta Tesis corresponde a la Star Ruby, la cual tuvo su origen en Texas en 1959, por una mutación de la variedad Hudson mediante la irradiación de semillas, presentando como principal diferencia morfológica una coloración más intensa tanto de la pulpa como de la parte externa del fruto. Los frutos Star Ruby son de forma redondeada y de tamaño grande, la piel que los envuelve presenta un color amarillento, mientras que en su interior observamos tonalidades rojizas que dan al zumo un color rojo rubí, característica por la cual se le otorga el nombre a esta variedad. El zumo de pomelo tiene un papel importante en la salud humana, por su elevado poder depurativo y antioxidante, además de ser una fuente importante de vitamina C.

El árbol de la variedad Star Ruby es de tamaño medio, algo péndulo, con tendencia al achaparramiento, por lo que se presta a plantaciones más densas que con otras variedades. Se observa una cierta falta de uniformidad de los árboles en el campo. Presenta una producción precoz, buena productividad, con recolección algo más temprana que otras variedades. Es un fruto excelente para consumo en fresco y para industria, muy apreciado en los mercados europeos. No obstante, hay que tener en cuenta algunos problemas de clorosis invernal típica, acentuada por determinadas condiciones de cultivo, el frío o exceso de humedad. Así mismo es sensible al empleo de determinados herbicidas, insecticidas, etc. (Generalitat Valenciana, 2001).



Figura III.7. Imagen de la flor (cerrada) y del fruto del pomelo Star Ruby.

Fuente: Propia.



Figura III.8. Árbol *Citrus paradisi*, variedad Star Ruby. **Fuente:** Propia.

Los patrones utilizados en los ensayos de esta Tesis han sido *Citrus Macrophylla* para la variedad de pomelo y Citrange Carrizo para la de mandarino, dado que son los patrones más comúnmente utilizados en cultivos cítricos del área mediterránea. Las características concretas de cada uno de ellos se recogen en la Tabla III.1. Así, *Citrus Macrophylla* destaca por su vigor, por tener una producción muy alta y por ser tolerante a la salinidad. Sin embargo, Citrange Carrizo, siendo también un patrón considerado vigoroso, adelanta la entrada en maduración del fruto, pero tiene una tolerancia baja a la salinidad. Además, ambos patrones disponen marcadas diferencias en conductividad hidráulica.

Tabla III.1. Características principales de los patrones *Citrus Macrophylla* y Citrange Carrizo. Fuente: Elaboración propia con datos extraídos de Agrológica (2013).

		<i>Citrus Macrophylla</i>	Citrange Carrizo
Influencia sobre la variedad	Vigor	Alto	Alto
	Entrada en producción	Rápida	Media
	Producción	Muy alta	Alta
	Calidad fruto	Medio	Alta
	Tamaño fruto	Alto	Alto
	Maduración	Media	Adelanta
Tolerancia a condiciones del medio	Salinidad	Alta	Baja
	Caliza	Media	Baja
	Heladas	Baja	Alta
	Sequía	Media	Baja
	Encharcamiento	Baja	Baja
Enfermedades	Tristeza	Sensible	Tolerante
	Phytophthora	Resistente	Tolerante
	Exocortis	Tolerante	Sensible
	Psoriasis	-	Tolerante
	Xyloporosis	Sensible	Tolerante
	Armillaria	-	Sensible
	Nemátodos	Sensible	Sensible

III.3.4 Situación actual de los cítricos

Los cítricos se cultivan a escala mundial en más de cien países de los cinco continentes, constituyendo el cultivo de árbol frutal más importante del mundo.

Los últimos datos de FAOSTAT (2017) sobre la campaña de cítricos a nivel mundial de 2014 (Tabla III.2), estiman su producción en 175,3 millones de t con una superficie cultivada de 11,5 millones de ha. En concreto, la producción de mandarina fue de 46,8 millones de t ocupando unas 3,9 millones de ha. La producción de pomelo, por su parte, fue de aproximadamente 12,2 millones de t en 397.000 ha.

Tabla III.2. Producción y superficie cultivada de cítricos a nivel mundial.

Fuente: Elaboración propia con datos estadísticos extraídos de FAOSTAT (2017).

Cultivo	Producción (t)	Área cultivada (ha)
Mandarino	46.855.422	3.900.897
Pomelo	12.179.402	396.994
Total cítricos	175.266.288	14.484.751

En las Figuras III.9 y III.10, se observan los países con mayor producción de mandarina y pomelo, respectivamente.

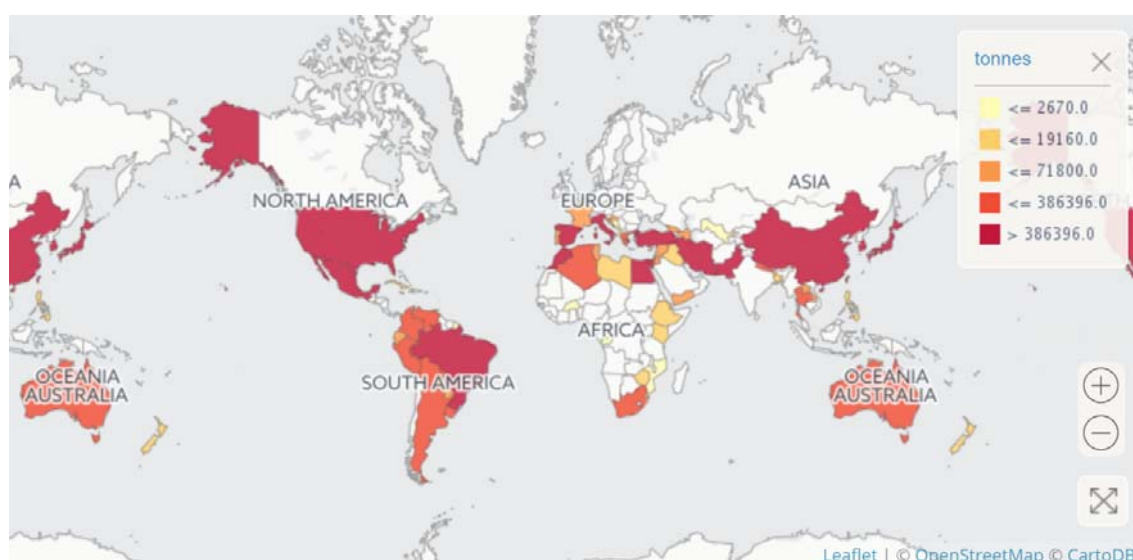


Figura III.9. Producción de mandarina por países en 2014 a nivel mundial.

Fuente: FAOSTAT (2017).

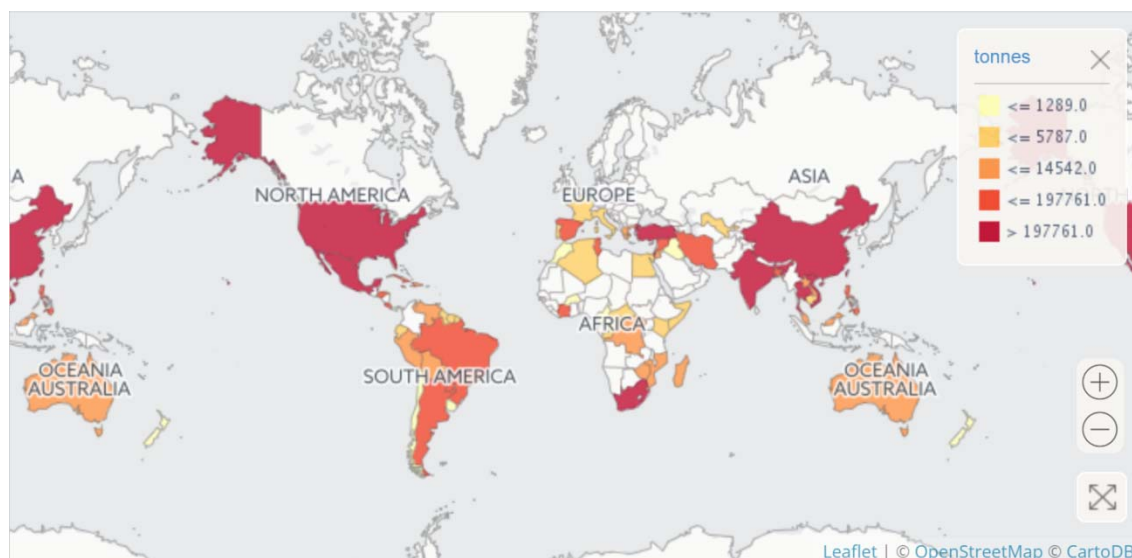


Figura III.10. Producción de pomelos por países en 2014 a nivel mundial.

Fuente: FAOSTAT (2017).

En Europa, los datos preliminares del informe GAIN de USDA (2017) sobre la campaña 2016/2017 estiman una producción de cítricos de 10,9 millones de t, siendo 3,2 millones de t de mandarina y 115.000 t de pomelo. Además, la producción de pomelo a nivel europeo tiene actualmente una tendencia positiva, a pesar de que la producción total de cítricos y de mandarina se mantiene constante (Figura III.11).

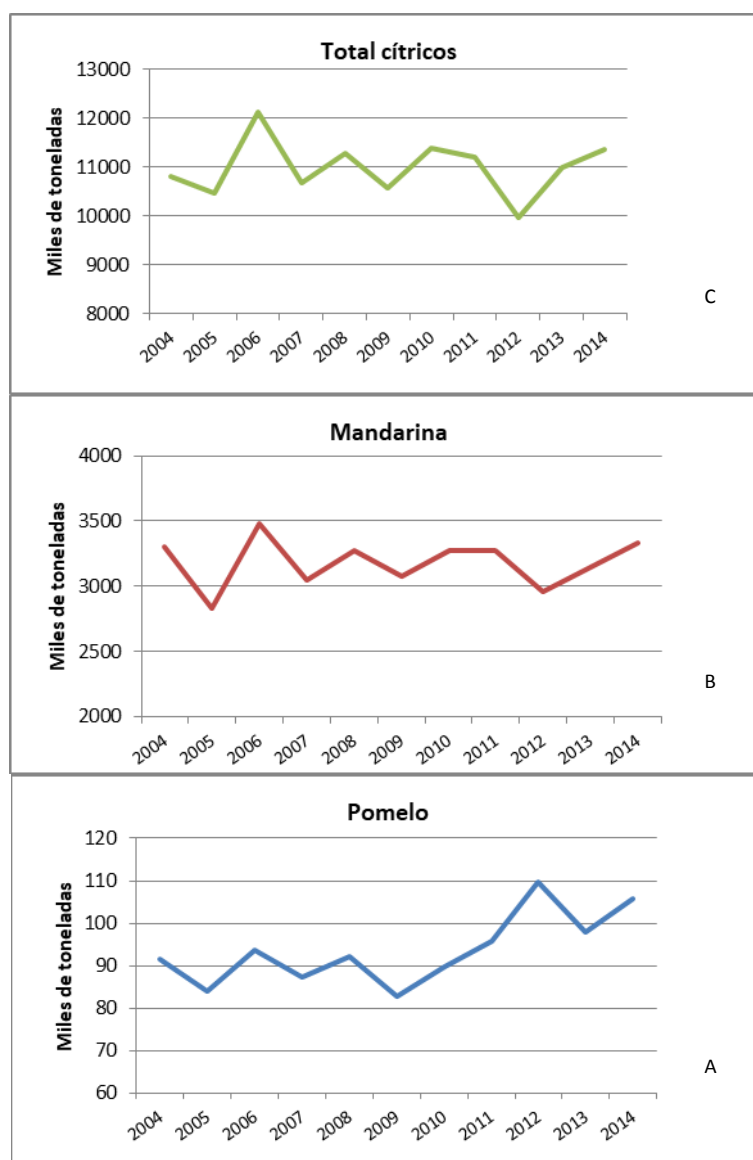


Figura III.11. Evolución histórica (2004-2014) de la producción de pomelo, mandarina y total de cítricos en Europa.

Fuente: Elaboración propia con datos extraídos de FAOSTAT (2017).

En el área Mediterránea, los cítricos son actualmente uno de los cultivos comerciales más importantes (Langgut, 2017).

A nivel nacional, España es el primer exportador de cítricos en fresco del mundo. Concretamente, es el primer exportador de mandarinas y el sexto exportador mundial de pomelo (el primero a nivel europeo). En cuanto a la producción, España es el sexto país productor de cítricos, sólo superado por China, Brasil, India, Estados Unidos y

México (y segundo país si se refiere exclusivamente a mandarina). Concretamente, la producción de cítricos a nivel nacional se estimó en 7 millones de t con una superficie cultivada aproximada de 300.000 ha en 2014. Según datos de USDA (2017), la producción de mandarina esta campaña 2016/2017 es de 2,4 millones de t ocupando unas 113,3 mil ha y un rendimiento de 21,1 t/ha. En cuanto a pomelo, se producen 68,5 mil t en 1,9 mil ha, obteniendo un rendimiento de 36,8 t/ha (FAOSTAT, 2017) (Tabla III.3). La producción de pomelo española corresponde al 60% de toda la producción europea, concentrándose en la Región de Murcia la mayor parte de la producción a nivel nacional (USDA, 2017).

Tabla III.3. Producción y superficie cultivada de cítricos a nivel nacional.

Fuente: Elaboración propia con datos estadísticos extraídos de FAOSTAT (2017a) y *USDA (2017).

Cultivo	Producción (t)	Área cultivada (ha)
Mandarino	2.374.000*	113.292
Pomelo	68.516	1.862
Total cítricos	7.055.427	300.838

Respecto a Europa, España produce el 65% del total de cítricos y por especies, el 74% de mandarina y el 60% de pomelo (Figura III.12).

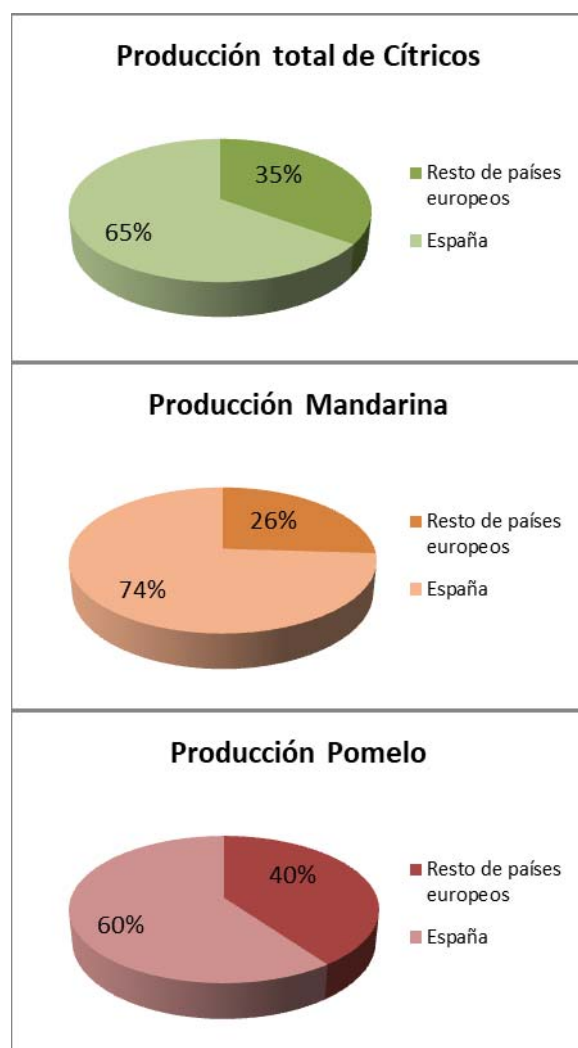


Figura III.12. Producción de cítricos de España respecto a Europa. Fuente: Elaboración propia con datos extraídos de FAOSTAT (2017) y *USDA (2017).

En la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia, el cultivo de cítricos es uno de los principales motores del sector primario. En los últimos años, la producción de este tipo de cultivo, y concretamente de mandarino, ha aumentado de manera significativa (Figura III.13). No obstante, la producción de pomelo se ha mantenido relativamente constante durante el periodo 2009-2016.

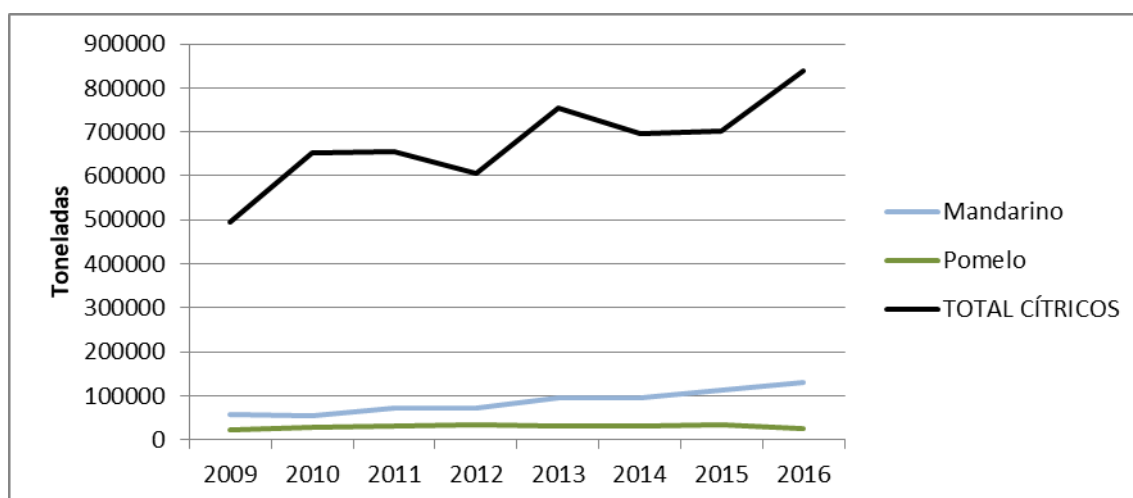


Figura III.13. Producción de cítricos a nivel regional. Fuente: Elaboración propia con datos extraídos de CARM (2017).

Según el último informe estadístico de la CARM (CARM, 2017) sobre el año 2016, la producción total de cítricos fue de 840.000 t, de las cuales 129.000 t corresponden a mandarina y 26.500 t a pomelo. Asimismo, estos datos indican que la Región de Murcia produce aproximadamente el 39% de la producción de pomelo a nivel nacional (Figura III.14).

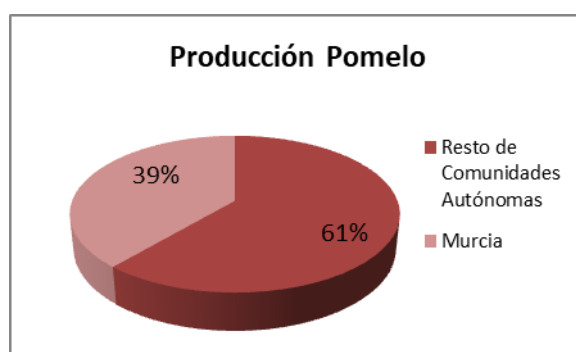


Figura III.14. Producción de pomelo de la Región de Murcia respecto a España. Fuente: Elaboración propia con datos extraídos de CARM (2017), FAOSTAT (2017) y USDA (2017).

En cuanto a superficie, se indica que unas 37.800 ha de regadío fueron cultivadas con cítricos, de las cuales 5.500 ha fueron destinadas al cultivo de mandarinos y 579 ha al de pomelos. De toda esta superficie, el 92 y 93% para mandarino y pomelo, respectivamente, estuvo bajo riego localizado (CARM, 2017). Por consiguiente, la inmensa mayoría de las áreas de cítricos disponen de una infraestructura de riego localizado, lo que permite aumentar la eficiencia en el uso del agua. Sin embargo, la presión a la que están sometidos los recursos hídricos hace que sea necesario el estudio del comportamiento del cultivo ante condiciones adversas para manejar de una forma más eficiente el riego (Vélez et al., 2012).

Teniendo en cuenta la distribución comarcal de los cítricos dentro de la Región de Murcia, la Vega del Segura es el área donde se concentra la mayor parte de la superficie destinada a este cultivo (Figura III.15).

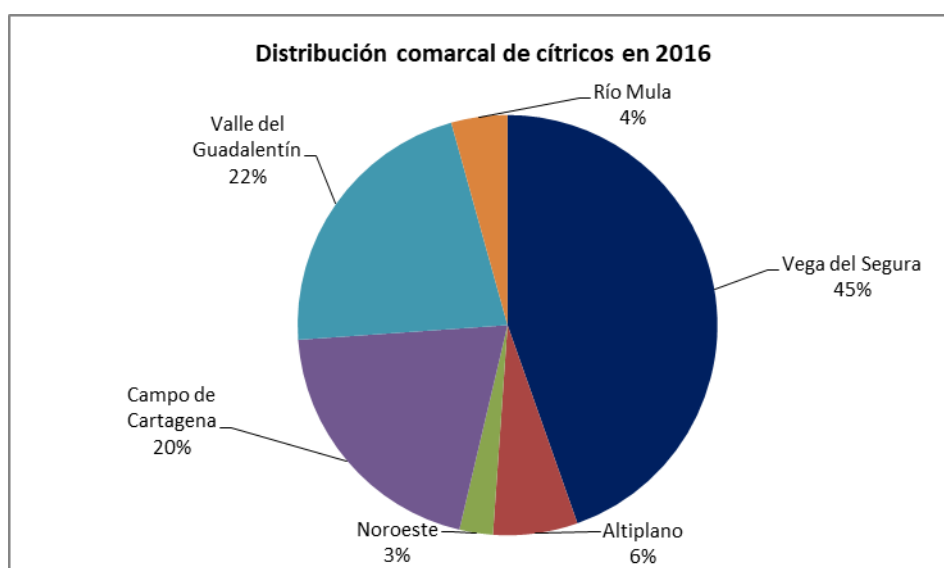


Figura III.14. Principales zonas productoras de cítricos en la Región de Murcia, en función de la superficie cultivada.

Fuente: Elaboración propia con datos extraídos de CARM (2017).

III.4 TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO UTILIZADAS

III.4.1 Teledetección

En primer lugar, se comentan los principios básicos de la teledetección y, a continuación, su aplicación en las ciencias agrarias.

La palabra teledetección deriva de la traducción del término inglés "remote sensing". Se define como un conjunto de técnicas y conocimientos que forman parte de las ciencias espaciales y que se caracterizan por permitir el estudio de los recursos terrestres, a partir de datos registrados por sensores que se encuentran en plataformas terrestres, aéreas o satelitales, alejadas del propio objeto en estudio, mediante un método científico.

La base física de la teledetección se encuentra en la capacidad de los sensores para medir las respuestas espectrales de los objetos, sus variaciones espaciales y temporales. La energía, al llegar al objeto, interactúa de diversas formas dependiendo de las características propias del mismo. De esta forma, la energía incidente puede ser en parte reflejada, transmitida y/o parte absorbida.

La radiación reflejada en función de la longitud de onda es lo que se llama firma espectral, la cual ayuda a identificar cada uno de los objetos de la superficie de la tierra dado que cada uno de ellos tiene una respuesta espectral única (FAO, 1999). En el caso de la cobertura vegetal, la reflectancia espectral varía con la longitud de onda, reflejando más en ciertas longitudes que en otras.

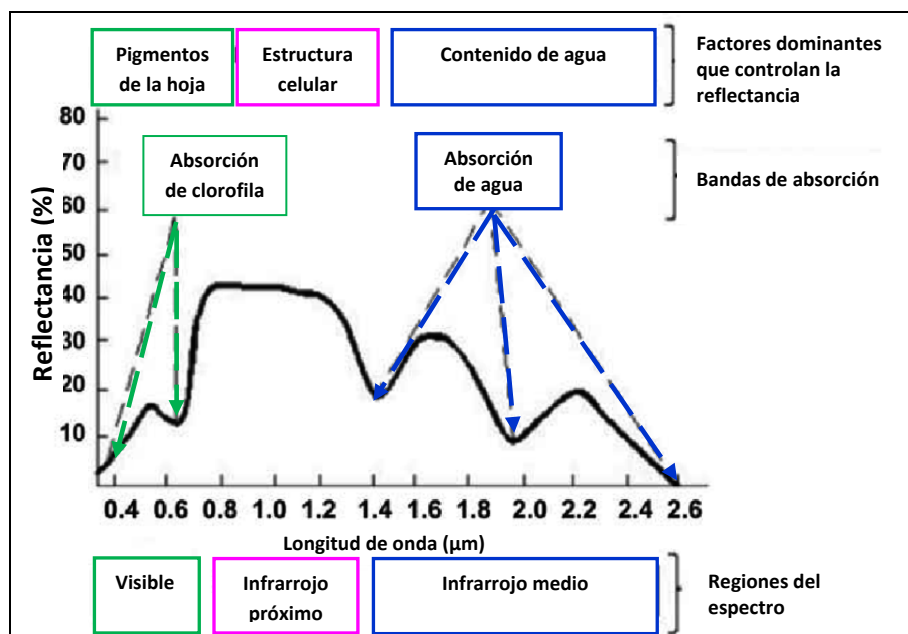


Figura III.16. Firma espectral de la vegetación. Fuente: Adaptado de Aguilar (2010).

Como indica la Figura III.16, se puede distinguir las regiones espectrales siguientes:

- Visible (0,4-0,7 μm .): alta absorbancia, baja reflectancia y transmitancia, debido a los pigmentos.
- Infrarrojo cercano (0,7-1,3 μm .): baja absorbancia, reflectancia media-alta y transmitancia media. En este rango, la reflectividad crece notablemente debido a la escasa absorción de las plantas por su estructura fisiológica (estructura de la hoja).
- Infrarrojo medio (1,3-3,0 μm .): absorbancia media-alta, reflectancia media, transmitancia baja. En esta región, el agua contenida en la hoja es la responsable de la baja reflectividad, dado que el agua presenta un máximo de absorción en dicho rango.

En la publicación 2 de la Tesis se emplean las regiones espectrales del visible y del infrarrojo cercano, es decir, las regiones donde los factores que dominan la reflectancia son los pigmentos y la estructura foliar. Por ello, a continuación se comentan en mayor detalle.

- **Absorción de los pigmentos foliares.** Las plantas contienen cuatro pigmentos principales, clorofila a y b, caroteno y xantofila, que absorben energía en el rango del visible para realizar los procesos fotosintéticos. La presencia de clorofila a y b da lugar a una baja reflectividad de la vegetación en las zonas del espectro visible correspondientes al azul (0,4 μm) y al rojo (0,7 μm) dado que dichos pigmentos son los responsables de la absorción en estas longitudes de onda. Los carotenos y xantofilas lo hacen en las longitudes del verde (0,55 μm) y algunas longitudes más largas (Ollinger, 2011).

- **Estructura fisiológica de la hoja.** La discontinuidad del índice de refracción entre las partes de la hoja determina la reflectancia en el infrarrojo. Esta discontinuidad ocurre entre las membranas y el interior del citoplasma, entre células individuales y espacios de aire del mesófilo esponjoso (Bonilla et al., 2015).

La combinación de los pigmentos y la estructura fisiológica de la hoja produce propiedades características de la reflectancia, como baja reflectancia en el rojo y en el azul, reflectancia media en el verde y alta en el infrarrojo.

Las diferencias de reflectancia entre especies dependen del grosor de la hoja, el cual afecta a la cantidad de pigmentos contenidos y a la estructura fisiológica. Por ejemplo, hojas gruesas como las de las coníferas tienden a absorber más y a reflejar poco, a diferencia de las hojas palmadas y delgadas que absorben poco y reflejan más, por ello, este tipo de hojas se identifican con tonos más claros que las de las coníferas (FAO, 1999).

La teledetección tiene múltiples aplicaciones en el ámbito de la agricultura, desde la cuantificación de cultivos hasta un manejo de precisión de las explotaciones agrarias donde se puede evaluar el estado fenológico e hídrico de los cultivos. Este último aspecto es el evaluado en la Tesis. En este sentido, conocer el estado hídrico de un cultivo es un factor determinante para llevar a cabo una gestión agrícola adecuada. Esto se puede lograr a través de medidas destructivas a nivel foliar (potencial hídrico, intercambio de gases, contenido de clorofila y rasgos estructurales de la hoja) o/y a nivel de dosel vegetal (Lelong et al., 2008; Berni et al., 2009b; González-Dugo et al., 2012, 2013; Zarco-Tejada et al., 2012; Gago et al., 2013; Contreras et al., 2014). Esta última opción corresponde a la medida de la respuesta espectral de las copas de los árboles y se considera un método rápido y no destructivo que puede detectar precozmente señales de estrés en los cultivos (Jones y Vaughan, 2010). Se ha

demostrado la utilidad y la rentabilidad de la adquisición de la información citada anteriormente con técnicas de teledetección en comparación con las técnicas de campo basadas en el muestreo de hojas, que son más laboriosas y conllevan más tiempo (González-Dugo et al., 2012).

En cuanto a los sistemas de captación de las imágenes, los enfoques tradicionales tienen varios inconvenientes. Por un lado, las imágenes satélites tienen baja resolución y, a menudo, sufren problemas con la cobertura de nubes, y, por otro, los sensores remotos que están fijos en torres dentro de las parcelas de cultivo son relativamente caros cuando se deben recoger datos de varias parcelas (Anderson y Gaston, 2013). Sin embargo, en los últimos años, el uso de vehículos aéreos no tripulados (UAV) ha aumentado gracias a los avances tecnológicos, la reducción de costes y el tamaño de los sensores. Estos UAV podrían ser operados por los propios agricultores para diagnosticar el estrés hídrico y ajustar el riego según sea necesario. Por consiguiente, la tecnología UAV puede cubrir la brecha de conocimiento entre la hoja y el dosel vegetal al mejorar tanto la resolución espacial como temporal del estado vegetativo (Gago et al., 2015).

En los últimos años, la investigación se está centrando en la verificación de los diferentes índices de vegetación, detallados en la publicación 2, adquiridos a través de UAV equipados con cámaras multispectrales, con medidas a nivel foliar del estado fenológico y estructural de la planta (Lelong et al., 2008; Berni et al., 2009a; Zarco-Tejada et al., 2013a, b; Contreras et al., 2014).

III.4.2 Discriminación isotópica

La determinación de los isótopos estables ha surgido como una de las herramientas más útiles para avanzar en la comprensión de las relaciones entre las plantas y su entorno. En ciencias agrarias, es una actividad pionera escasamente utilizada hasta el momento y, concretamente, en la evaluación de los efectos del riego con AR combinada con estrategias de RDC nunca ha sido aplicada.

Los isótopos son átomos de un mismo elemento, cuyos núcleos poseen una cantidad diferente de neutrones y, por lo tanto, difieren en el número másico (la suma del número de protones y de neutrones).

La mayoría de elementos principales para la vida, como pueden ser el C, el N y el O, poseen más de un isótopo estable (no radiactivo). Muchos procesos físico-químicos que tienen lugar en la naturaleza determinan la forma en que los isótopos se reparten entre diferentes sustancias, lo que se conoce como fraccionamiento isotópico. Como resultado de estos procesos de fraccionamiento, existen sustancias que difieren ligeramente en la distribución de sus isótopos estables, diferencias que pueden medirse mediante la espectrometría de masas. Estas variaciones o cocientes en la abundancia o enriquecimiento natural de los isótopos estables ^{13}C , ^{18}O y ^{15}N respecto a sus correspondientes isótopos estables patrones ^{12}C , ^{16}O y ^{14}N (los más abundantes y comunes), en el suelo, las plantas y el agua, son las empleadas para la investigación en diferentes campos. En el caso de material vegetal, la composición de los isótopos estables está determinada principalmente por las condiciones ambientales que prevalecen durante la formación del mismo.

En esta Tesis se presenta concretamente un estudio del isótopo estable ^{15}N y, por ello, a continuación, se expone información detallada del mismo.

El nitrógeno atmosférico está formado, en un 99,634%, de ^{14}N y en 0,366% de ^{15}N . La masa atómica del isótopo estable ^{15}N difiere levemente del átomo más abundante (^{14}N) siendo el ^{15}N más pesado y el ^{14}N más ligero.

Debido a que la composición de ^{15}N atmosférico es relativamente constante (0,366%) se utiliza este nitrógeno atmosférico como estándar (patrón) para determinar los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de diferentes compuestos. Es decir, la relación de referencia es $(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})_{\text{atmósfera}} = 0,003676$.

La abundancia natural de ^{15}N esta es una herramienta útil para comparar el $\delta^{15}\text{N}$ entre plantas dentro de un ecosistema, entre plantas y su fuente de N, y entre los distintos tejidos o componentes de la planta. Muchos estudios han asumido que el $\delta^{15}\text{N}$ de una planta refleja la fuente principal de N, pero esta suposición sólo ha sido verificada bajo condiciones específicas, como se comentará más adelante. Las diferencias entre la fuente de N y la firma isotópica de la planta también pueden ayudar a comprender cómo los procesos fisiológicos de absorción de nutrientes por parte de la planta afectan a la discriminación isotópica (Evans, 2001).

En condiciones de campo, la discriminación isotópica sólo se observa cuando la demanda de N de la planta es menor comparada con el suministro de N (Evans et al., 1996), es decir, sólo cuando hay un excedente de N. Esto sucede dado que las enzimas nitrato reductasa (responsable de la asimilación y transformación del nitrato a amonio) y glutamina-sintetasa-glutamato-sintetasa (responsable de la asimilación de amonio) permiten que parte del N inorgánico enriquecido en ^{15}N que ha sido absorbido se filtre de nuevo desde las raíces de las plantas hacia el exterior, discriminando así en contra del ^{15}N (es decir, retienen preferentemente el ^{14}N). Esto es poco probable si la demanda de N de la planta es mayor en relación con el suministro de N. Por tanto, se puede considerar que el valor del $\delta^{15}\text{N}$ es una buena aproximación del ^{15}N del N de la/s fuente/s sólo cuando la demanda de N excede el suministro de N en los sistemas (Michener y Lajtha, 2007).

En el caso del suelo, las causas más importantes del enriquecimiento en ^{15}N son los procesos de:

- Mineralización: da lugar a un fraccionamiento pequeño entre la materia orgánica y el amonio o nitrato del suelo.
- Volatilización: el amoníaco volatilizado tiene menos ^{15}N que el amonio residual que queda en el suelo.
- Desnitrificación: la desnitrificación y la reducción de nitrato no asimilado incrementa los valores de ^{15}N del nitrato residual.
- Lixiviación. El isótopo ^{14}N , al ser menos pesado, reacciona más rápidamente que el ^{15}N , y por tanto, el ^{14}N se va acumulando en los nuevos productos –los lixiviados–, mientras la fuente residual se va enriqueciendo de ^{15}N (suele ser la zona del suelo donde se ubican las raíces de las plantas). En este sentido, el abuso de los

fertilizantes en sistemas agrarios ha dado lugar a altas concentraciones de nitrato, susceptible de ser lixiviado y, por tanto, cambios significativos en los valores de ^{15}N del nitrato del suelo, de la planta, de las aguas superficiales y subterráneas cercanas a los suelos de las tierras de cultivo (Michener y Lajtha, 2007).

Por lo tanto, las pérdidas de N en el sistema (ineficiencia en el uso del N) se relacionan positivamente con una concentración alta de ^{15}N en el suelo y, consecuentemente, en la planta. Como se ha mencionado antes, la asimilación de N por parte de las raíces discrimina entre ^{14}N y ^{15}N , favoreciendo la incorporación de ^{14}N , pero si el suelo está enriquecido en ^{15}N , irremediablemente, la planta asimilará más ^{15}N que ^{14}N .

En la Publicación 3 de este Estudio se determina el enriquecimiento isotópico del ^{15}N en el tejido foliar dado que se considera el resultado de la relación isotópica de la fuente externa de N y de los mecanismos fisiológicos intrínsecos de la planta como el fraccionamiento del $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ durante la asimilación de N, translocación del N y pérdida de N (Evans, 2001; Robinson et al., 2000; Kriszan et al., 2009; Khelil et al., 2013a, b).

Respecto a las sales, como se mencionó en el apartado 3.2.1, el riego con aguas regeneradas con altas concentraciones de sales y nutrientes requiere un manejo adecuado del N para obtener una eficiencia óptima en el uso del N. La asimilación de NO_3^- , que es la forma predominante de N en un entorno aeróbico, es crítica si las plantas se desarrollan en condiciones salinas (Aslam et al., 1984). En este sentido, se ha documentado que la salinización con NaCl inhibe la absorción neta de NO_3^- en cultivos como la cebada (Koach y Mengel, 1975; Siddiqi et al., 1990; Kronzucker et al., 1995) y en plántulas de cítricos (Cerezo et al., 1997; Cerezo et al., 1999; Cerezo et al., 2007; Camañes et al., 2009). Sin embargo, no se ha estudiado el efecto de los iones salinos en la asimilación de NO_3^- en cultivos leñosos. A diferencia del NH_4^+ , el NO_3^- es altamente soluble en agua y es susceptible a la lixiviación, lo que contribuye a las pérdidas de N del agroecosistema, disminuyendo la eficiencia en el uso del N de los cultivos y aumentando el riesgo de contaminación medioambiental. Por lo tanto, es importante conocer la regulación de los mecanismos de absorción de las principales fuentes de nutrición de las plantas, NO_3^- y NH_4^+ , y la interacción entre ellas, para poder optimizar las dosis de fertilización y evitar la contaminación de los acuíferos (Destain, 2010). En este sentido, se sabe relativamente poco acerca de los efectos del riego con agua

regenerada y la eficiencia en el uso del nitrógeno y, por lo tanto, del estrés por salinidad, en el ciclo del N en los agroecosistemas.

Una mejor comprensión de los principales factores que controlan el $\delta^{15}\text{N}$ de la hoja puede ayudar a avanzar en el conocimiento de la absorción de N en los cultivos, entre ellos los cítricos. Por ello, se necesitan estudios empíricos que profundicen en el conocimiento de cómo la variación natural en la abundancia de ^{15}N en las hojas podría correlacionarse con la calidad del agua de riego, disponibilidad de nitrógeno y en la utilidad del $\delta^{15}\text{N}$ como indicador del grado de eficiencia del uso del nitrógeno en los sistemas agrarios.

CAPÍTULO IV. PUBLICACIONES QUE CONSTITUYEN LA TESIS DOCTORAL

IV. PUBLICACIONES QUE CONSTITUYEN LA TESIS DOCTORAL

IV.1 PUBLICACIÓN N° 1

TÍTULO: Assessment of the viability of using saline reclaimed water in grapefruit in medium to long term

Aportaciones más relevantes que ha realizado la doctorando en la publicación: todos los aspectos contenidos en el mismo, desde el muestreo en campo, los análisis de laboratorio, el procesado y tratamiento estadístico de los datos así como la redacción del mismo han sido realizados por Cristina Romero Trigueros, bajo la supervisión de los directores.

IV.1.2 Resumen en castellano

“Evaluación de la viabilidad del uso de aguas regeneradas salinas en cultivos de pomelo a medio-largo plazo”.

Resumen

Los cítricos son cultivos que se ven fuertemente afectados por la salinidad, especialmente en países donde el riego es necesario, como las regiones semiáridas del Mediterráneo. Los objetivos de este estudio fueron i) identificar el indicador más adecuado, a nivel estacional, del estado hídrico de árboles de pomelo regados con agua regenerada salina (AR) durante cinco años, mediante la determinación de parámetros fisiológicos (intercambio gaseoso y potencial hídrico de tallo), rasgos estructurales a nivel foliar (contenido de clorofila, nitrógeno en base al área y el peso específico foliar), elementos fitotóxicos y de la producción total; ii) estimar los umbrales de fitotoxicidad a nivel de hoja. Los resultados mostraron que el contenido de clorofila fue el mejor indicador dado que obtuvo el mayor número de medidas con diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$, ANOVA) a lo largo del ciclo vegetativo. Asimismo, la clorofila a se correlacionó con el nitrógeno en base al área ($R^2 = 0.63$, $p < 0.001$) y el peso específico foliar ($R^2 = 0.64$; $p < 0.001$). Los umbrales salinos de fitotoxicidad a partir de los cuales se redujo la producción de fruta fueron $0.1 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ para Na, $0.6 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ para el Cl y 100 ppm para el B. En resumen, este trabajo reveló la importancia de las medidas de clorofila foliar como indicador de diagnóstico del estrés salino en los árboles de pomelo. Dicho parámetro también se relacionó con indicadores del estado hídrico de la planta, tales como el potencial hídrico de tallo, la

conductancia estomática y la fotosíntesis neta. Además, se mostró una potencial acumulación de sales a nivel de hoja, lo que conduce a un posible riesgo en la sostenibilidad de los cultivos a medio y largo plazo.

1. Introducción y objetivos

Se ha demostrado que los cítricos pueden ser fuertemente afectados por la salinidad del agua de riego, especialmente en zonas mediterráneas, además de ser uno de los cultivos más sensibles a la acumulación de B (Grattan, 2013). El efecto primario de las altas concentraciones tanto de B como de Na y Cl es el cierre estomático (Gimeno et al., 2012), que da lugar a una disminución de la tasa de transpiración, reduce la disponibilidad de CO₂ para la fotosíntesis (García-Sánchez y Syvertsen, 2006) y aumenta la acumulación de iones (Brumos et al., 2009; Mouhaya et al., 2010) y el daño en las hojas, lo que generalmente conduce a una reducción en la producción total de fruta (Murkute et al., 2005). Por consiguiente, el B y la salinidad pueden limitar la viabilidad a largo plazo del uso de agua regenerada (AR) en cítricos a medida que aumenta el tiempo de exposición a los mismos. La tolerancia puede disminuir debido a la acumulación progresiva en las hojas de niveles tóxicos de Na, Cl y B (Reboll et al., 2000; Pereira et al., 2011). El conocimiento del papel que desempeñan la fenología de la hoja, su estructura, la función fotosintética y el estado hídrico así como la interacción entre estos factores durante el ciclo de cultivo, en la función fisiológica de la planta es importante para evaluar la productividad de los árboles frutales (Mirás-Avalos et al., 2011) y para la caracterización del impacto de las distintas prácticas agronómicas. Concretamente, es sabido que el estado hídrico de la planta regula numerosos procesos fisiológicos incluyendo la fisiología de la hoja, la cual afecta directamente a la productividad de los cítricos (Gomes et al., 2004). La información sobre parámetros como la fotosíntesis neta (A) y la conductancia estomática (g_s) mejora la comprensión de la relación agua-planta y su efecto sobre la producción de los cultivos bajo estrés salino. En este sentido, la g_s se considera un parámetro particularmente adecuado para evaluar los efectos del estrés en la planta (Flexas et al., 2002). Además, la reducción de la A en cítricos bien regados pero con agua salina se ha asociado con la toxicidad específica del Cl y/o Na (Levy y Syvertsen, 2004).

Por otro lado, en trabajos recientes se ha demostrado la importancia de los cambios ontogénicos de las hojas en la optimización del proceso fotosintético (Egea et al., 2012), por lo que se considera importante analizar el peso específico foliar y el nitrógeno en base al área de la hoja. Asimismo, las diferencias en el contenido de

clorofila a nivel foliar pueden ser un indicador del vigor de la planta y de la capacidad fotosintética de la misma (Carter y Spiering, 2002; Wu et al., 2008). Por lo general, se espera que plantas sanas, con elevada capacidad de crecimiento, contengan niveles altos de clorofila en comparación con plantas menos saludables (Zarco-Tejada et al., 2004).

El efecto del riego con agua salina en diferentes variedades de cítricos ha sido evaluado en muchos estudios, especialmente en invernadero (Lloyd et al., 1987; García-Sánchez y Syvertsen, 2006; Melgar, 2008; Syvertsen y Melgar, 2010) o incluso en *in vitro* (Montoliu et al., 2009). Sin embargo, son bastante escasos los trabajos donde se utilice AR salina para el riego de árboles en campo y donde se evalúe la tolerancia a largo plazo de dichos cultivos leñosos debido al costo y el tiempo requeridos para obtener la producción total de fruta durante varias campañas (es decir, varios años). En este trabajo, se estudia, por primera vez, el uso durante 5 años consecutivos de AR salina en pomelos bajo condiciones de campo midiendo estacionalmente el intercambio gaseoso, el potencial hídrico del tallo, la caracterización de los rasgos estructurales, el contenido de clorofila y los elementos fitotóxicos a nivel foliar.

En base a lo anterior, el primer objetivo del estudio fue evaluar qué indicador de sostenibilidad a nivel de planta es el más adecuado para evaluar la fisiología de árboles de pomelo regados con AR. Para ello, se estudiaron los cambios ontogénicos y fisiológicos de las hojas a lo largo del ciclo de cultivo y, finalmente, la producción del cultivo. El segundo objetivo fue analizar los niveles foliares de elementos fitotóxicos a lo largo del año y estimar sus umbrales de toxicidad. Además, también se evaluaron los efectos ambientales de la acumulación de sales en hoja.

2. Materiales y métodos

2.1 Condiciones experimentales y material vegetal

El experimento fue llevado a cabo en una finca comercial de cítricos, localizada en el noreste de la región de Murcia, a 7 km de Molina de Segura (38°07'18''N, 1°13'15''W), en 2012. La parcela experimental (Figura IV.1) de 0.5 ha fue cultivada con árboles de pomelo 'Star Ruby' de 7 años de edad (*Citrus paradisi* Macf) injertados sobre patrón *Macrophylla* [*Citrus Macrophylla*] con un marco de plantación de 6 x 4 m. Todos los árboles recibieron la misma cantidad de fertilizantes ($\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$) que se

aplicaron a través del riego por goteo: 210 kg N, 105 kg P_2O_5 y 155 kg K_2O . El control fitosanitario fue el utilizado generalmente por el agricultor.



Figura IV.1. Vista de la parcela experimental de árboles de pomelo (0,5 ha).

Fuente: Propia.

Se emplearon un total de 96 árboles con valores medios de altura y diámetro de 1.94 ± 0.16 m y 2.56 ± 0.36 m, respectivamente. El ensayo se diseñó en bloques aleatorios con 4 repeticiones por tratamiento. Cada repetición estaba formada por 3 filas con 4 árboles cada una y se usaron los dos árboles centrales de la fila del medio para las mediciones mientras que el resto de árboles se excluyeron del estudio para eliminar posibles efectos de borde.

2.2 Tratamientos de riego y calidad del agua

Desde el año 2007, los árboles fueron regados con dos fuentes de agua diferentes. La primera de ellas procedente del trasvase Tajo-Segura (AT), considerada de buena calidad agronómica, con una conductividad eléctrica (CE) en torno a $1 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ (Figura IV.2), y la segunda procedente de la Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR) del norte de Molina de Segura (AR), caracterizada por tener un elevado nivel de nutrientes (N, P, K) y de sales, con valores de CE cercanos a $4 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ (Figura IV.3).



Figura IV.2. Fotografía del Trasvase Tajo-Segura. Fuente: Página web La Cerca.



Figura IV.3. Imagen de la EDAR de Molina de Segura. Fuente: Wikimapia.

El AR se mezcló automáticamente en el cabezal de control de riego con AT para reducir su valor de CE a $\approx 3 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$, como valor intermedio entre el umbral límite de pérdidas de producción significativas ($1.5\text{-}2 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$) (Maas, 1993) y el valor medio de CE de $4 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ a la salida de la EDAR. El alto nivel de salinidad observado en el AR fue debido principalmente a la elevada concentración de cloruros ($>600 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y de sodio ($>500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). El AR tuvo, además, concentraciones más elevadas de B, N, P y K así como valores de pH más básicos que el AT (Figura IV.4).

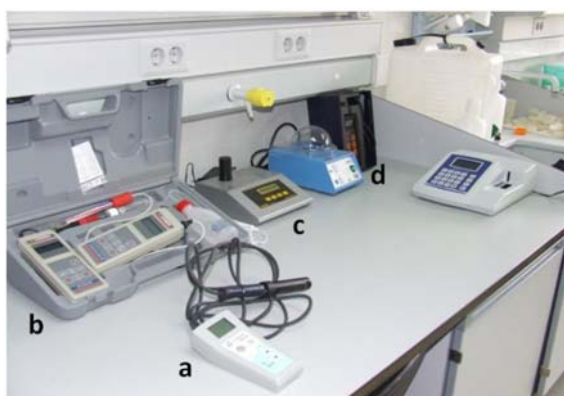


Figura IV.4. Equipos para la evaluación de la calidad del agua: a) medidor de oxígeno disuelto, b) pH-metro, c) turbidímetro y d) equipo multi-rango, conductividad eléctrica (CE) y sólidos totales disueltos (STD). Fuente: Propia.

Para ambas fuentes de agua se estableció un tratamiento Control, regado de acuerdo a los requerimientos hídricos del cultivo ($100\% ET_c$) a lo largo del ciclo vegetativo (Figura IV.5). La cantidad de agua aplicada en los dos tratamientos fue de $6066 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$.



Figura IV.5. Árbol del tratamiento Control de Agua del Trasvase (AT).

Fuente: Propia.

2.3 Medidas a nivel de planta

Los parámetros de intercambio gaseoso foliar (fotosíntesis neta $[A]$ y conductancia estomática $[g_s]$) y el potencial hídrico del tallo (Ψ_s) se determinaron en días claros y en hojas adultas, completamente expandidas y del segmento medio de cada árbol.

A y g_s se determinaron con un equipo de fotosíntesis portátil (LI-6400 Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA) equipado con una cámara de fluorescencia foliar con cubeta de 2 cm^2 LI-6400/40 y un inyector de CO_2 LICOR 6400-01 (Figura IV.6). Las medidas fueron realizadas a una concentración de CO_2 de 400 ppm (similar a la concentración de CO_2 ambiental), una intensidad de luz saturante de $1200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ y a temperatura y humedad relativa ambiental. El flujo de aire se ajustó a $300 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Las mediciones se realizaron en hojas expuestas a la luz solar entre las 8:00-10:00 GMT, dependiendo de la estación del año, dado que en dicho intervalo es cuando la g_s alcanza los valores más elevados y, además, se evitan temperaturas altas y baja HR.



Figura IV.6. Equipo de fotosíntesis portátil LI-6400 Licor. Fuente: Propia.

El Ψ_s se midió a mediodía solar (12:00 GMT) en hojas cercanas al tronco, envueltas en sobres de aluminio al menos 2 h antes de la medida, utilizando una cámara de presión (modelo 3000 Pressure extractor, Plant Water Status, Soil Moisture Equipment Corp., Santa Bárbara, California, USA) (Figura IV.7).



Figura IV.7. Cámara de presión modelo 3000 Soil Moisture Equipment Corp. Fuente: Propia.

El área de veinte hojas por árbol, muestreadas en los dos árboles centrales de cada repetición por tratamiento, fue determinada en un medidor de área foliar (LI-3100 Leaf AreaMeter, Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA) (Figura IV.8).

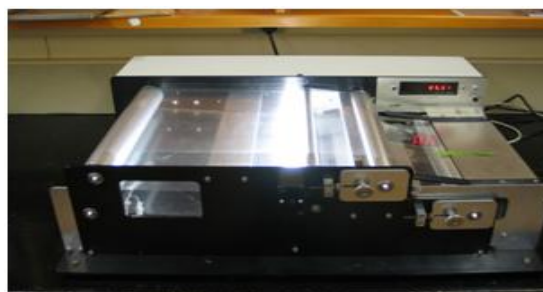


Figura IV.8. Equipo de medida de área foliar LI-3100 Licor. Fuente: Propia.

A continuación, las hojas se lavaron con detergente (alconox al 0.1%), se enjuagaron con agua corriente, se les añadió una solución diluida de HCl al 0.005% y, finalmente, se aclararon por agua destilada. Las muestras se secaron en una estufa a 65° C hasta obtener un peso constante (aproximadamente 2 días). A continuación, se determinó el peso seco de las mismas para calcular el peso específico foliar (PEF) (en el artículo original este parámetro se define como peso en base al área, W_a , g·m⁻²) y el área específica foliar (AEF) (igualmente, en el artículo este parámetro se define como área foliar en base al peso, W_w , m²·g⁻¹). El material vegetal, ya seco, fue molido y digerido en una mezcla de ácido nítrico (4 ml) y peróxido de hidrógeno (1 ml). La concentración de Na y B se determinó mediante espectrometría de emisión con plasma acoplado inductivamente (ICP-ICAP 6500 Duo Thermo, UK) (Figura IV.9).



Figura IV.9. Equipo de espectrometría de emisión con Plasma Acoplado Inductivamente ICP-iCAP 6500 Duo Thermo. Fuente: Propia.

Los aniones, como el cloruro, se analizaron por cromatografía iónica con un cromatógrafo Metrohm (Suiza) (Figura IV.10).



Figura IV.10. Cromatógrafo iónico Metrohm. Fuente: Propia.

El contenido en nitrógeno se determinó mediante análisis elemental (Leco TruSpec, Saint Joseph, USA) (Figura IV.11) y el resultado se refirió en base al área foliar (N_{area} , $\text{gN}\cdot\text{m}^{-2}$).



Figura IV.11. Analizador de carbono y nitrógeno Leco TruSpec.

Fuente: Propia.

Por último, para la determinación de la clorofila foliar, aproximadamente 30 mg de material vegetal fresco se sumergieron en 3 mL del agente extractor N, N-dimetilformamida y se mantuvieron en condiciones de oscuridad y agitación durante al menos 72 h para garantizar la extracción total de los pigmentos de clorofila. La absorbancia se determinó a 647 nm y 664.5 nm con un espectrofotómetro visible-ultravioleta (modelo Helios alpha, UVA No. 092009, Thermo, UK) (Figura IV.12) y mediante las ecuaciones de Inskeep y Bloom (1985) se calculó el contenido de clorofila en base al peso fresco ($\text{mg}\cdot\text{g}_{\text{MF}}^{-1}$).



Figura IV.12. Espectrofotómetro modelo Helios alpha Thermo Spectronic.

Fuente: Propia.

2.4 Análisis y diseño estadístico

Los valores medios de cada muestreo se interpretaron mediante un análisis de varianza (ANOVA). Las regresiones lineales se calcularon usando Excel y para evaluar la significación de estas relaciones se utilizaron los coeficientes de correlación de Pearson. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando SPSS (vers. 17.0 para Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3. Resultados

El ciclo vegetativo se dividió en 3 períodos o fases fenológicas: etapa de brotación y floración (SB), etapa de crecimiento del fruto (FG) y etapa de postcosecha (PH).

3.1 Medidas de intercambio gaseoso y del estado hídrico de la planta

La A estuvo muy influenciada por la g_s ($R^2=84$, $p<0.001$). Ambos parámetros mostraron una tendencia a aumentar hasta el final del período de maduración de la fruta (final de la etapa de crecimiento del fruto –FG–). No obstante, hubo una reducción de ambos parámetros (30-35% de A y una regulación estomática de 40-45%), durante los meses de julio y agosto, más pronunciada en el tratamiento de AR.

Durante la etapa de brotación y floración (etapa SB) no hubo diferencias significativas entre los tratamientos debido a que la floración de los cítricos se considera un periodo insensible a la luz (Chica y Albrigo, 2013). Independientemente de la calidad del agua de riego, en la fase de postcosecha (PH), los niveles de intercambio de gases disminuyeron.

El Ψ_s no mostró diferencias significativas entre los tratamientos, aunque los pomelos regados con AR tuvieron valores ligeramente más negativos que los de AT a lo largo del ciclo vegetativo.

3.2 Caracterización de los rasgos estructurales de la hoja

Los mayores valores del PEF se encontraron de noviembre a marzo. En los meses de marzo a julio, por el contrario, disminuyó progresivamente debido a una importante reducción de la masa seca y una leve disminución en el área foliar.

El N_{area} mostró su valor más bajo durante la fase SB y, luego, presentó una tendencia ascendente durante FG, siendo significativamente mayor en el tratamiento de AR que en el tratamiento AT durante dicha etapa.

El contenido máximo de Chl α se encontró en la fase PH para ambos tratamientos y el contenido mínimo al comienzo de la fase de FG. Por otra parte, el tratamiento de AR mostró una disminución significativa en Chl T y Chl α a lo largo de todas las etapas del ciclo vegetativo.

Además, se observó que la Chl α disminuyó de manera significativa con AEF durante FG, de manera más marcada en AT ($p < 0.001$) que en AR ($p < 0.01$). De la misma manera, Chl α aumentó linealmente con la concentración de N_{area} a lo largo de FG y, de nuevo, más significativamente para el tratamiento AT ($p < 0.01$) que para el AR ($p < 0.02$). Además, se encontró una correlación entre A y Chl T para ambos tratamientos, siendo más significativa para el tratamiento AT ($p < 0.001$) que para el AR ($p < 0.1$). Del mismo modo, A y el contenido de N foliar también se correlacionaron positivamente en ambos tratamientos (AT: $p < 0.01$; AR: $p < 0.02$).

3.3 Elementos fitotóxicos y producción

El tratamiento de AR tuvo concentraciones foliares de Cl, Na y B significativamente mayores que los árboles regados con AT. Los valores más altos se encontraron durante la etapa de SB. Se observaron diferencias significativas en la producción total de fruta del tratamiento AT ($140.8 \text{ kg} \cdot \text{árbol}^{-1}$) con respecto a la producción del AR ($113.8 \text{ kg} \cdot \text{árbol}^{-1}$). Esta tendencia también se observó en años anteriores (datos no mostrados). La salinidad no redujo el diámetro del fruto sino que disminuyó el número de frutos proporcionalmente a la disminución de los kg. La productividad del agua fue de 9.7 y $7.8 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ para los tratamientos AT y AR, respectivamente.

4. Discusión

4.1 Fisiología de la planta y relaciones hídricas

La disminución del intercambio gaseoso observada en todos los árboles durante los meses de verano (julio y agosto, etapa FG) fue debida a las altas temperaturas y al incremento del déficit de presión de vapor, de acuerdo con observaciones previas en cítricos (Jifon y Syvertsen, 2003) y otras especies C_3 (Díaz-Espejo et al., 2007). Los

árboles del tratamiento AR mostraron una mayor regulación estomática que los del tratamiento AT debido al efecto fitotóxico acumulado del Na, Cl y B, de acuerdo con Lloyd et al. (1987), Anjum (2008), Melgar (2008), Hussain et al. (2012) y a la disminución del contenido de clorofila (Zarco-Tejada et al., 2004), dando lugar a una mejora de la eficiencia en el uso del agua como efecto protector contra el estrés e indicando que el pomelo es tolerante a la salinidad (Syvertsen y Melgar, 2010). En el resto de etapas (SB y PH) no hubo diferencias significativas entre los tratamientos.

Los valores de Ψ_s se mantuvieron por encima de -1 MPa a lo largo del ciclo de cultivo, indicando que los dos tratamientos estuvieron adecuadamente regados (Pérez-Pérez et al., 2008). No hubieron diferencias significativas entre los tratamientos, similar a lo encontrado en Pedrero et al. (2013) y Paranychanakis et al. (2004). No obstante, los valores más negativos del potencial hídrico se alcanzaron a mitad de la fase de FG y en el tratamiento de AT disminuyeron en mayor medida que en el de AR debido a que sus árboles absorben más agua del perfil del suelo que los árboles regados con AR (Mounzer et al., 2013), alcanzando así mayor déficit hídrico. En el tratamiento AR, la salinidad procedente del agua de riego redujo considerable la fracción disponible de agua en el suelo evitando la absorción total de agua presente y sometiendo al sistema radicular a un estrés osmótico adicional con un potencial riesgo de toxicidad iónica. Esto limitó la g_s y, por lo tanto, también la disminución del potencial hídrico, como se observó en el tratamiento de AR y de acuerdo con los resultados de Arbona et al. (2009). Por consiguiente, el Ψ_s demostró no ser un indicador fiable para evaluar la respuesta fisiológica de los árboles de pomelo al estrés salino.

4.2 Rasgos estructurales de la hoja

El PEF fue mayor en la fase de PH para ambos tratamientos dado que durante ese periodo las plantas acumulan más cantidad de carbohidratos como reservas que serán utilizadas durante la diferenciación floral, el inicio de la brotación y la fructificación. Por el contrario, el N_{area} mostró los valores más bajos al final de la fase SB, similar a lo encontrado en Albrigo et al. (2005), resultado de la translocación del N a los nuevos brotes (Egea et al., 2009). Estas fluctuaciones observadas a través del ciclo de cultivo del PEF y N_{area} fueron debidas a la alternancia de periodos de movilización y periodos de asimilación y almacenaje, indicando que las hojas de pomelo juegan un importante papel como reserva de asimilados.

En cuanto a la clorofila, los niveles más elevados se dieron en los meses de invierno y primavera, como se observó con los valores del PEF, ayudando así a la acumulación de carbohidratos. Entre tratamientos, el exceso de Na, Cl y B del AR redujo significativamente el contenido de Chl T y Chl a en todas las fases del ciclo vegetativo, dando lugar a una reducción de la fotosíntesis (Almansa et al., 2002; García-Sánchez et al., 2002; Levy y Syvertsen, 2004; Papadakis et al., 2004a, b).

El contenido de N foliar es un factor determinante en la tasa fotosintética dado que si es elevado, la fotosíntesis y también el contenido de clorofila lo serán (Calderón et al., 1997). Los resultados muestran que el N_{area} se correlacionó positivamente con la Chl a durante la fase de FG, de acuerdo con los resultados de Bondada y Syvertsen (2003), siendo más significativa ésta correlación en el tratamiento AT. Por lo tanto, la concentración de clorofila en las hojas puede ser un índice del contenido en N (Daughtry et al., 2000).

Por otro lado, durante la etapa de FG, Chl a y AEF también se correlacionaron negativamente, siendo también más significativa en el tratamiento AT, debido a que la reducción de AEF causada por la disminución de la densidad y el grosor foliar, pudo resultar en un menor número de cloroplastos por unidad de área, de acuerdo a Evans y Poorter (2001).

Estos resultados mostraron la importancia de la medida de clorofila foliar para evaluar la sostenibilidad del uso de AR en cítricos. Además, este parámetro también se relacionó con los indicadores del estado hídrico de la planta tales como el Ψ_s , la g_s y la A, y es una herramienta útil incluso para medidas multiespectrales de la reflectancia del dosel vegetal (Zarco-Tejada et al., 2004).

4.3 Elementos fitotóxicos y producción

Existe una gran disparidad en relación a los umbrales fitotóxicos foliares para los cultivos de cítricos (Grattan, 2013; Emblenton et al. 1973; Labanauskas y Bitters 1974). En este Trabajo se establecen los límites de Na, Cl y B a partir de los cuales la producción de la cosecha se ve afectada: Na: $0.1 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$, Cl: $0.6 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ y B: 100 ppm. Los tres elementos fitotóxicos alcanzaron sus niveles más altos en la fase SB aunque no se observaron síntomas de toxicidad en la hoja. Resultados similares obtuvieron en Reboll et al. (2000). De acuerdo con Hussain et al. (2012), el pomelo 'Star Ruby' presenta repentinas caídas de hoja todavía verde. Este mecanismo de defensa implica

una acción evasiva para eliminar las hojas que han acumulado iones tóxicos (Iglesias et al., 2007; Arbona et al., 2009) y justifica el hecho de que no hubieran signos visibles de toxicidad en nuestro ensayo.

En relación a la producción, el riego con AR disminuyó aproximadamente un 20% los $\text{kg}\cdot\text{árbol}^{-1}$. Es decir, la salinidad limitó la productividad de los cítricos (Boyer, 2001). Este hecho estuvo relacionado con la reducción de la clorofila foliar y la tasa fotosintética, disminuyendo consecuentemente la disponibilidad de C, lo que afectó el rendimiento del cultivo, como también indicaron González-Altozano y Castel (2000). En resumen, el Na, Cl y B pueden limitar la viabilidad del uso de AR a largo plazo debido a su efecto tóxico acumulativo (Levy y Syvertsen, 2004).

5. Conclusiones

Después de evaluar la validez de tres indicadores (parámetros de intercambio gaseoso, potencial hídrico del tallo y contenido foliar de clorofila) para estudiar la sostenibilidad del uso de agua regenerada salina en cultivos de pomelo, los resultados mostraron la necesidad de realizar mediciones estacionales del contenido de clorofila como indicador de diagnóstico del estrés salino. Además, este parámetro también estuvo relacionado con los indicadores del estado hídrico de la planta, como el potencial hídrico del tallo, la conductancia estomática y la fotosíntesis. Por otro lado, se establecieron con precisión los umbrales de fitotoxicidad para Na, Cl y B que causan una disminución en la producción de cítricos. Por último, se observó que la acumulación de sales a nivel foliar podría conducir a posibles riesgos en la sostenibilidad del cultivo a medio y largo plazo.

IV.2 PUBLICACIÓN N° 2

TÍTULO: Effects of saline reclaimed waters and deficit irrigation on Citrus physiology assessed by UAV remote sensing

Aportaciones más relevantes que ha realizado la doctorando en la publicación: todos los aspectos contenidos en el mismo, desde el muestreo en campo, los análisis de laboratorio, el procesado y tratamiento estadístico de los datos así como la redacción del mismo han sido realizados por Cristina Romero Trigueros, bajo la supervisión de los directores.

IV.2.1 Resumen en castellano

“Evaluación de los efectos del agua regenerada salina combinado con estrategias de riego deficitario sobre la fisiología de Cítricos mediante teledetección con UAV”.

Resumen

El objetivo del trabajo fue evaluar el uso de la teledetección para detectar cambios estructurales y fisiológicos en cítricos sometidos a estrés hídrico y salino. Las imágenes multiespectrales fueron adquiridas con un sistema aéreo no tripulado (UAV) al mismo tiempo que se realizaron medidas a nivel de planta del intercambio gaseoso, del estado hídrico, de las propiedades estructurales y de la clorofila foliar. Ambos tipos de medidas se realizaron a las 7.00 (t_1) y a las 10.00 (t_2) GMT del 7 de julio de 2015 en una finca comercial localizada en el sureste de España en dos especies de cítricos, pomelo y mandarino, regados durante ocho años consecutivos con agua regenerada salina (AR) combinada con una estrategia de riego deficitario controlado (RDC). Los resultados mostraron que, en pomelo, el riego con AR disminuyó el peso específico foliar y el intercambio gaseoso tanto en t_1 como en t_2 . Sin embargo, en mandarino el AR dio lugar a un aumento del potencial de presión que permitió a los parámetros de intercambio gaseoso (fotosíntesis neta, A , y conductancia estomática, g_s) mantenerse sin descensos significativos incluso con el aumento del déficit de presión de vapor que hubo en t_2 . En ambos cultivos, el AR redujo significativamente la concentración de clorofila total (Chl T). Por otra parte, el RDC disminuyó la A , g_s y el potencial hídrico de tallo (Ψ_s) en pomelo, independientemente de la calidad del agua. Respecto a los datos multiespectrales, la longitud de onda en la banda del rojo (R) fue correlacionada significativamente en todos los casos con los niveles de Chl T ($p < 0.001$), excepto cuando

el mandarino fue sometido a condiciones climáticas más demandantes (es decir, en t_2), debido a que la R estuvo influenciada, además de por el contenido de Chl T, por el estado hídrico y el intercambio gaseoso de la planta. La banda espectral del infrarrojo cercano (NIR) resultó ser un buen indicador de A , g_s y Ψ_s en ambos cultivos. El índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI) se relacionó adecuadamente con el intercambio gaseoso en ambas especies y con el Ψ_s sólo en mandarino. Finalmente, englobando ambas especies, los mejores indicadores para los parámetros aquí evaluados fueron la banda espectral NIR y R. La novedad del estudio recae en mostrar que los cambios diurnos de las propiedades fisiológicas y estructurales de cítricos regados con AR y RDC pueden ser detectados mediante imágenes multispectrales captadas con un UAV.

1. Introducción y objetivos

En áreas semiáridas del Mediterráneo el agua de riego no está siempre disponible debido a la escasez de agua (Pedrero et al., 2015). Además, las predicciones actuales sobre el cambio climático señalan un incremento de la frecuencia e intensidad de los periodos de sequía (García-Galiano et al., 2015; Stocker et al., 2013). El uso de fuentes de agua no convencionales como el agua regenerada (AR) y de estrategias como el riego deficitario controlado (RDC) podrían ser alternativas para los agricultores. Para garantizar el éxito de ambas es necesaria una caracterización del estado hídrico de la planta, que se logra con medidas a nivel foliar y, además, con la ampliación de esta información a nivel de parcela. En este sentido, la respuesta espectral del dosel vegetal es un método rápido y no destructivo que determina, de forma temprana, las señales de estrés de un cultivo (Jones y Vaughan, 2010). La adquisición de esta información con técnicas de control remoto (RS) ha demostrado ser útil y económica comparada con técnicas más laboriosas y que consumen más tiempo basadas en el muestreo foliar. La tecnología de RS de imágenes está basada, principalmente, en la reflectancia de longitudes de onda en la banda espectral del visible, tales como la del rojo (R), y la banda no visible del espectro, como la del infrarrojo cercano (NIR). Además, los índices compuestos que integran datos de ambos dominios, como el índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI), han mostrado correlaciones positivas con indicadores de estrés hídrico a nivel de planta (potencial hídrico y conductancia estomática) en ciertos cultivos (Gago et al., 2015; Glenn et al., 2008). No obstante, la fiabilidad del enfoque de RS aéreo debe todavía ser evaluada con datos reales a nivel de hoja, es decir, con medidas directas del estado hídrico de la

planta (potencial hídrico de hoja), intercambio gaseoso (fotosíntesis neta y conductividad estomática), contenido de clorofila y estructura foliar (Berni et al., 2009b; Contreras et al., 2014; Gago et al., 2013; González-Dugo et al., 2012, 2013, 2015; Lelong et al., 2008; Zarco-Tejada et al., 2012).

Entre los factores de estrés más estudiados mediante tecnología UAV se encuentra la sequía (Baluja et al., 2012; Gago et al., 2015; Pôcas et al., 2015; Rodríguez-Pérez et al., 2007; Stagakis et al., 2012; Zarco-Tejada et al., 2012); por el contrario, hay muy pocas investigaciones del estrés causado por la salinidad procedente de AR (Contreras et al., 2014). Asimismo, el número de estudios que evalúan durante periodos de tiempo prolongados (varios años) la tolerancia a ambos estreses (salino e hídrico) es muy bajo. En la mayoría de los casos, los indicadores usados para este propósito están relacionados con cambios en la estructura del dosel vegetal a lo largo de las diferentes estaciones del año; sin embargo, los enfoques relacionados con cambios fisiológicos diurnos a lo largo de un mismo día (González-Dugo et al., 2015), como es el caso de este trabajo, son escasos.

Por consiguiente, el ensayo presentado aquí es el primero en evaluar los efectos de la exposición prolongada (ocho años) al riego con AR y RDC en árboles adultos de pomelo y mandarino bajo condiciones de campo mediante medidas i) del estado hídrico de la planta, intercambio gaseoso y clorofila foliar para obtener datos de campo reales y ii) multiespectrales adquiridas con un UAV. Además, se evaluó la utilidad de las imágenes multiespectrales para determinar los cambios estructurales y fisiológicos diurnos en cultivos de cítricos sometidos a déficit hídrico y estrés salino.

2. Materiales y Métodos

2.1 Descripción del ensayo y los tratamientos de riego

El ensayo fue llevado a cabo en 2015 en la misma finca comercial de cítricos citada en la publicación nº 1 de esta Memoria, localizada en el noreste de la región de Murcia con un clima BSk, según la clasificación de Köppen-Geiger (Peel et al., 2007). La parcela experimental de 1 ha estaba cultivada con i) árboles de pomelo ‘Star Ruby’ (Figura IV.13) de 11 años de edad (*Citrus paradisi* Macf) injertados sobre patrón *Macrophylla* [*Citrus Macrophylla*] con un marco de plantación de 6 x 4 m y ii) árboles de mandarino (*Citrus clementina* cv Orogrande) (Figura IV.14) de 14 años de edad

injertados sobre Citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Obs. x *Poncirus trifoliata* L.) con un marco de plantación de 5 x 3.5 m.



Figura IV.13. Árbol de pomelo ‘Star Ruby’ de la parcela experimental. Fuente: Propia.



Figura IV.14. Árbol de mandarino Orogrande de la parcela experimental. Fuente: Propia.

La parcela experimental fue regada con dos fuentes de agua diferentes desde 2007, como se citó en la publicación anterior. La primera de ellas procedente del trasvase Tajo-Segura (AT) (Figura IV.15), considerada de buena calidad agronómica, y la segunda de ellas bombeada desde la EDAR del norte de Molina de Segura (AR), caracterizada por tener un elevado nivel de sales, boro y nutrientes.



Figura IV.15. Trasvase Tajo-Segura. Fuente: Propia.

Para cada fuente de agua se establecieron dos tratamientos de riego. El primero fue un riego Control (C) a lo largo de toda el ciclo de cultivo satisfaciendo completamente las necesidades hídricas del cultivo ($100\% ET_c$). El segundo fue un tratamiento de Riego Deficitario Controlado (RDC) regado de forma similar al Control, excepto durante la segunda fase de crecimiento rápido del fruto, en la que la cantidad de agua aplicada se redujo a la mitad ($50\% ET_c$). Este tratamiento ahorró un 18% de agua de riego en ambas especies en 2015.

2.2 Imágenes aéreas

La campaña de vuelo se realizó el 7 de julio del 2015 usando un UAV de alas fijas (eBee, SenseFly) (Figura IV.16). Se llevaron a cabo dos vuelos aéreos (AF) a 100 m de altura aproximadamente sobre la parcela experimental: el primero a las 7.00 GMT (t_1) y el segundo a las 10.00 GMT (t_2). Se utilizó un piloto automático, siguiendo un plan de vuelo creado con un software planificador de vuelos (eMotion). La cámara empleada fue una Canon IXUS 125 HS digital compacta con un sensor de 16 megapíxeles que captura imágenes en el formato JPEG en el rango del espectro del visible (verde y rojo) y en el del infrarrojo cercano. Se tomaron 110 imágenes por vuelo y se procesaron para obtener ortofotos empleando la técnica “Structure from Motion” (SfM) (Lucieer et al., 2013) implementada en el paquete software Agisoft PhotoScan Professional versión 0.9.1.



Figura IV.16. Dron (UAV) de alas fijas eBee SenseFly. Fuente: Página web Sensefly.

Cuando la vegetación es verde y densa, la luz roja (banda espectral del R, 600-700 nm) es absorbida en gran medida debido a la alta concentración de clorofila, mientras que la luz de la región del infrarrojo cercano (NIR, 700-900 nm) es fuertemente dispersada por las paredes celulares.

El índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI), como indicador del verdor de la vegetación, fue calculado con los datos espectrales de la banda R y NIR:

$$NDVI = (NIR - R) / (NIR + R)$$

donde NIR y R son las radiaciones totales capturadas en la parte superior del sensor y codificadas como números digitales en el NIR y R, respectivamente. Los valores medios se extrajeron para un área circular de 1 m de radio centrada en la copa de los árboles para minimizar la perturbación de fondo del suelo (Figura IV.17).

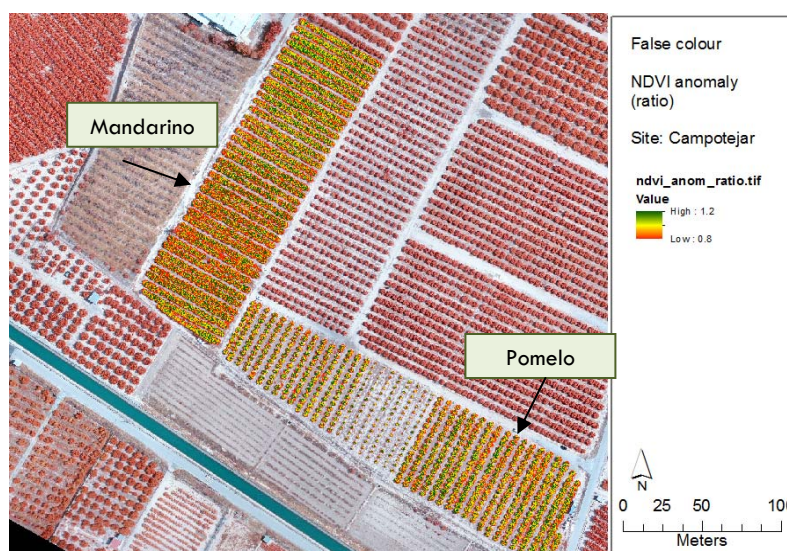


Figura IV.17. Imagen espectral de las parcelas experimentales de mandarino y pomelo. Fuente: Propia.

2.3 Medidas a nivel de planta

Las medidas fisiológicas y estructurales a nivel de planta se realizaron el mismo día y a las mismas horas que los vuelos aéreos (sección 2.2), dos semanas después del inicio del RDC.

Los parámetros de intercambio gaseoso a nivel foliar (fotosíntesis neta, A , y conductancia estomática, g_s) fueron determinados con el equipo portátil de fotosíntesis citado en la publicación n° 1 (LI-6400 Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA) equipado con una cámara de luz LED (6400-02B) (Figura IV.18) y un inyector de CO_2 (LICOR 6400-01). Las medidas se realizaron a una intensidad de luz saturante ($1200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$), una concentración de CO_2 constante de $400 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ y a temperatura y humedad ambiental.

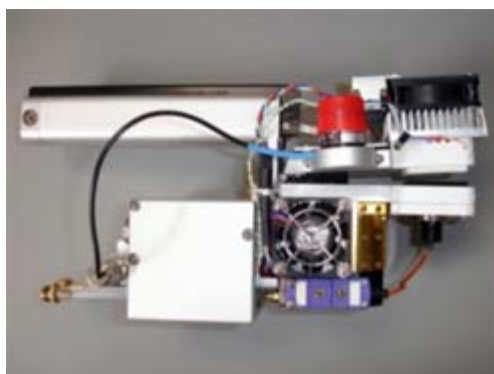


Figura IV.18. Cámara de luz LED (6400-02B) del equipo de fotosíntesis portátil LI-6400. Fuente: Propia.

El potencial hídrico de tallo (Ψ_s) fue determinado con la misma cámara de presión citada en la publicación anterior (modelo 3000; Soil Moisture Equipment Corp., California, USA) de acuerdo con Scholander et al. (1965) (Figura IV.19).



Figura IV.19. Hoja cubierta de papel de aluminio para la medida de potencial hídrico de tallo. Fuente: Alcobendas (2014).

Las hojas de la medida de Ψ_s en t_2 fueron congeladas en N líquido (-196°C) y almacenadas a -30°C hasta la medida del potencial osmótico (Ψ_π) en el extracto de savia, de acuerdo con Gucci et al. (1991), utilizando un osmómetro de presión de vapor WESCOR 5520 (Wescor Inc., Logan, UT, USA) (Figura IV.20).



Figura IV.20. Osmómetro de presión de vapor WESCOR 5520. Fuente: Propia.

El potencial de presión (Ψ_p) se calculó como la diferencia entre Ψ_s y Ψ_π . El área de veinte hojas por árbol, muestreadas en los dos árboles centrales de cada repetición por tratamiento, fue determinada en el medidor de área foliar (LI-3100 Leaf AreaMeter, Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA). A continuación, se lavaron de acuerdo a Desta (2014) y se secaron durante al menos dos días en una estufa a 65°C para determinar el peso específico foliar (PEF) (en el artículo original este parámetro se define como peso seco en base al área foliar, LMA). Los elementos fitotóxicos se determinaron en las hojas secas, que fueron trituradas y digeridas con una mezcla de ácido nítrico y peróxido de hidrógeno. El sodio y el boro mediante espectrometría de

emisión con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-iCAP 6500 DUO Thermo, Cambridge, UK) y los cloruros mediante cromatografía iónica con un cromatógrafo Metrohm (Suiza). Finalmente, el contenido de clorofila fue determinado según lo descrito en Romero-Trigueros et al. (2014a).

2.1 Análisis estadístico

Los datos se interpretaron usando un análisis de varianza ponderado (ANOVA) seguido por el test de Tukey HSD ($P < 0.05$) para evaluar las diferencias entre los tratamientos. Entre las variables medidas en campo y los datos multiespectrales se calcularon regresiones lineales, y se utilizaron los coeficientes de correlación de Pearson para evaluar la significación de estas relaciones. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando SPSS (vers. 23.0 para Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3. Resultados y discusión

3.1 Estado hídrico de la planta y propiedades estructurales de la hoja

Estado hídrico de la planta: potencial hídrico de tallo, potencial osmótico foliar y parámetros de intercambio gaseoso

La calidad del agua (AR o AT) no afectó al Ψ_s en ningún cultivo. Sin embargo, el RDC sí lo hizo: en pomelo, los tratamientos con RDC disminuyeron respecto a sus controles (11% en AR-RDC y un 15% en AT-RDC) en t_2 ; en mandarino, fueron los árboles control los que mostraron un Ψ_s significativamente más bajo en t_1 , debido probablemente a que estos árboles tenían mayor dosel vegetal que los RDC, absorbiendo por tanto más agua del perfil del suelo, con la consecuente bajada del potencial hídrico a primera hora de la mañana.

En pomelo, tanto el estrés hídrico como el salino (AT-RDC, AR-C y AR-RDC) disminuyeron el Ψ_π , aunque esto no dio lugar a un aumento significativo de la turgencia o potencial de presión (Ψ_p). En mandarino, sin embargo, sólo fue el riego con AR (AR-C y AR-RDC) el que dio lugar a una disminución del Ψ_π , incrementando, en este caso, significativamente el Ψ_p . Resultados similares fueron encontrados en Aksoy et al. (1998) y Gimeno et al. (2009). Esto fue debido a que la acumulación foliar de Na y Cl⁻ dio lugar a un importante ajuste osmótico (Pérez-Pérez et al., 2007)

En relación al intercambio gaseoso, en el caso del pomelo, tanto el estrés hídrico (RDC) como el salino (AR) disminuyeron la A y la g_s en t_1 y t_2 . En el tratamiento AR-C, esta reducción del intercambio gaseoso se asoció a la toxicidad específica de los iones Cl^- y/o Na (Levy and Syvertsen, 2004). Por el contrario, en el mandarino, sólo el estrés hídrico del tratamiento AT (AT-RDC) disminuyó su intercambio gaseoso en t_2 . El ajuste osmótico de los tratamientos de AR, incluido el RDC, aumentó el turgor de las hojas, manteniendo así los estomas abiertos para sustentar el intercambio gaseoso (García-Sánchez and Syvertsen, 2006).

Por otra parte, es conocido que los cítricos cultivados en áreas semiáridas están afectados por altos valores de déficit de presión de vapor (DPV) que dan lugar a disminuciones en el intercambio gaseoso desde las primeras horas de la mañana, incluso aunque estén bien regados (Villalobos et al., 2008). En este sentido, en pomelo el tratamiento AR-RDC fue el más afectado (reducción del 44 y 42% de A y g_s , respectivamente) y en mandarino, el AT-RDC (79 y 60% de A y g_s , respectivamente).

Propiedades estructurales de la hoja: peso específico foliar, elementos fitotóxicos y clorofila

El pomelo tuvo mayor PEF que el mandarino dado que dicho parámetro está relacionado con la capacidad fotosintética de las hojas (el pomelo mostró niveles más altos de intercambio gaseoso que el mandarino).

Respecto a los elementos fitotóxicos, en ambos cultivos los tratamientos de AR mostraron las concentraciones más altas. Los límites fitotóxicos establecidos en Romero-Trigueros et al. (2014a), se sobrepasaron en el mandarino para el B (AR-RDC) y para el Cl^- (AR-C) y, en el pomelo, para el B (AR-C y AR-RDC).

En cuanto a la clorofila, que puede ser un indicador de la capacidad fotosintética y del grado de estrés, los tratamientos regados con AR de ambos cultivos disminuyeron el contenido de clorofila total (Chl T) y aumentaron el coeficiente $Chl\ a/Chl\ b$ (Coef a/b), de acuerdo con los resultados mostrados en Bondada y Syvertsen (2003). El incremento de radiación, como ocurre del t_1 al t_2 , descompone la $Chl\ b$ en mayor proporción que la $Chl\ a$ debido a la inestabilidad del fotosistema II, el cual es rico en $Chl\ b$ (Casierra-Posada et al., 2012). En este sentido, sólo los mandarinos regados con AR aumentaron su Coef a/b debido a una mayor reducción de $Chl\ b$ respecto a la $Chl\ a$ (del t_1 al t_2).

3.2 Indicadores espectrales en cítricos

Comparando especies, en el primer vuelo, los pomelos tuvieron una mayor reflectancia en la banda espectral del NIR que los mandarinos (un 7% más) y, sin embargo, un 3% menos en la del R. Durante el segundo vuelo, ambas reflectancias disminuyeron debido a los cambios en las condiciones de demanda climática, pero no hubo diferencias entre cultivos.

Pomelo

En t_1 , tanto el estrés hídrico como el salino y la combinación de ambos (AT-RDC, AR-C y AR-RDC) aumentaron los valores de R respecto al control (AT-C). Este incremento de R responde a la disminución de la presencia de clorofila en dichos tratamientos. Respecto al NDVI, este fue significativamente más alto en los tratamientos de AT que en los de AR, lo cual está de acuerdo con los datos publicados en Contreras et al. (2014) en la misma parcela experimental pero al inicio de la aplicación del AR en 2009.

En t_2 , sólo el estrés salino incrementó los niveles de R, coincidiendo de nuevo con los niveles de clorofila foliar. El NIR disminuyó en los tratamientos de RDC pero no en AR-C, de acuerdo con el Ψ_s .

Mandarino

En t_1 , los árboles regados con AR mostraron los valores más altos de R, principalmente el AR-RDC debido a que fue el tratamiento con el contenido de clorofila más bajo. La reflectancia del NIR estuvo en consonancia con los datos medidos de Ψ_s ; los árboles del tratamiento de RDC presentaron valores más altos que los controles. En contraste con el pomelo, el NDVI fue mayor en los controles, independientemente de la calidad del agua.

En t_2 , la reflectancia en la banda espectral R se incrementó sólo en el AT-RDC y no en los tratamientos de AR, como se esperaba según la disminución de clorofila detectada. El grado de absorción de la radiación solar por la vegetación está relacionado con la turgencia de las células y con el grosor de las hojas (que afecta a su vez a la cantidad de pigmentos y a la estructura fisiológica). Al aumentar su turgencia, disminuye su reflectividad y aumenta la absorción (Castro, 1999). Por lo tanto, el aumento de Ψ_p en los tratamientos de AR, debido a un bajo Ψ_π impulsado por las sales del AR, interfirió con la reflectancia en la banda espectral R.

3.3 Correlaciones entre los indicadores espectrales y las medidas del estado hídrico de la planta y las propiedades estructurales de la hoja

Banda espectral R

En los árboles de pomelo, la banda espectral R estuvo significativamente correlacionada con la Chl T y con el Coef a/b ($p < 0.01$ y $p < 0.05$, respectivamente), como era de esperar según los resultados de la sección 3.1. La correlación fue negativa dado que la reflectancia en la banda del R disminuye con el incremento de la clorofila. Se han demostrado en un amplio rango de especies que la R está relacionada con los pigmentos fotosintéticos foliares (Sims y Gamon, 2002; Ollinger, 2011). Dado el importante papel fisiológico de la clorofila, demostrado en la publicación nº1 de esta Memoria, y sus propiedades de absorbanza, se considera muy ventajoso el haber corroborado la utilidad de la teledetección con UAV como una herramienta efectiva para estimar la clorofila foliar a partir de la reflectancia del dosel vegetal de pomelos, dado que de esta manera se evita la necesidad de llevar a cabo métodos destructivos en laboratorio.

En árboles de mandarina, por el contrario, no se encontró una correlación significativa de los datos de reflectancia R con los datos de Chl T porque los valores de R de los tratamientos de AR fueron más bajos que los que se esperaban según el contenido de Chl T medido a t_2 . Por consiguiente, el incremento de turgor de la hoja de los mandarinos regados con AR bajo condiciones de elevado DPV (en t_2) dio lugar a que la reflectancia de la R no sólo dependiera del contenido en pigmentos (que debiera haber aumentado dada la disminución de clorofila en hoja), sino que estuvo influenciada, también, por los cambios significativos en su estructura fisiológica (el incremento de turgor y, por tanto, del grosor de la hoja aumentó la absorción de la banda R, disminuyendo así la reflectancia que fue menor a la esperada, según el contenido en clorofila).

Dominio NIR

La alta reflectancia de la hoja en la región de la banda del NIR está relacionada con la probabilidad de que los fotones se dispersen al entrar en contacto con los constituyentes foliares, dado que la absorción en esta banda por los mismos es muy pequeña o completamente nula (Ollinger, 2011; Merzlyak et al., 2002). En nuestro estudio, la reflectancia del NIR en los árboles de pomelo y mandarina estuvo

correlacionada positivamente con el Ψ_s y, por consiguiente, con los parámetros de intercambio gaseoso. Los altos niveles de CO_2 en las hojas, donde los valores de fotosíntesis fueron altos, dieron lugar, probablemente, a una elevada dispersión/reflectancia en la banda del NIR, tal y como explica en su trabajo Ollinger (2011).

Índice NDVI

El índice NDVI mostró una relación directa con los parámetros A y g_s en pomelo, de acuerdo con Baluja et al. (2012) y Gago et al. (2015) para viñedos y Zarco-Tejada et al. (2012) para cítricos, y con el parámetro Ψ_s en mandarino, como en Baluja et al. (2012).

El índice NDVI y otros índices de vegetación son considerados indicadores estructurales relacionados con el vigor de la planta (Dobrowski et al., 2005; Zarco-Tejada et al., 2013b; Gago et al., 2015; González-Dugo et al., 2015) dado que detectan cambios en la estructura del dosel; sin embargo, según muchos autores (Haboudane et al., 2004; Dobrowski et al., 2005; Zarco-Tejada et al., 2013c) son considerados índices con poca o ninguna sensibilidad a cambios fisiológicos a corto plazo en hoja. Este trabajo muestra que, en el caso de los cítricos, el NDVI sí responde a cambios a corto plazo del intercambio gaseoso y del Ψ_s , como también concluyó Baluja et al. (2012) para el cultivo del viñedo. Por consiguiente, aquí se corrobora que en cítricos, el NDVI puede ser sensible a los cambios fisiológicos diurnos inducidos por las variaciones en las condiciones atmosféricas.

Indicador común para ambas especies

Teniendo en cuenta los datos de ambas especies en conjunto, la reflectancia en la banda espectral del NIR se correlacionó significativamente con Ψ_s ($p < 0.005$) y R con Chl T ($p < 0.005$). Por lo tanto, se consideran ambos indicadores espectrales (NIR y R) herramientas útiles para conocer el estado hídrico y los niveles de clorofila en cítricos.

4. Conclusiones

Este estudio evaluó los efectos fisiológicos y estructurales de la aplicación de AR y RDC después de ocho años en árboles de pomelo y mandarino mediante medidas multiespectrales (teledetección) y a nivel foliar (campo). Por un lado, se observó que, tanto en mandarino como en pomelo, la calidad del agua no afectó al potencial hídrico

de tallo; por el contrario, en pomelo los tratamientos de RDC sí disminuyeron su potencial hídrico, a pesar de la reducción encontrada en los parámetros de intercambio gaseoso. El contenido en clorofila se redujo significativamente en los árboles regados con AR (C y RDC) de los dos cultivos.

Por otro lado, los datos multiespectrales para el pomelo mostraron que el riego con AR (C y RDC) incrementó la reflectancia en la banda espectral R, de acuerdo con la disminución de clorofila medida, y disminuyó el NDVI en t_1 , en consonancia con la reducción del intercambio gaseoso observada. La reflectancia en la banda del NIR respondió al estrés hídrico (RDC), independientemente de la calidad del agua, en t_2 . Para el mandarino, el AR aumentó R respondiendo a la disminución de clorofila, pero sólo en t_1 ; cuando el DPV aumentó (t_2), el turgor de hoja de los tratamientos regados con AR se incrementó de manera significativa afectando a la reflectancia en la banda espectral del rojo (los pigmentos de clorofila absorben la luz roja y el aumento de turgor y grosor de hoja disminuyó dicha absorción, dando lugar a que la reflectancia de la R no aumentara lo esperado según los datos de clorofila medidos). Esto no ocurrió en pomelo dado que la aplicación de AR en dicho cultivo no dio lugar a un incremento de turgor significativo. El NDVI disminuyó en los RDC (AT y AR) y el NIR, como en pomelo, respondió al estrés hídrico de la planta (Ψ_s).

Las siguientes correlaciones significativas entre los parámetros de las medidas espectrales y las medidas a nivel foliar corroboran lo citado arriba:

En pomelo: R con Chl T y turgor de hoja; NIR con Ψ_s e intercambio gaseoso; y NDVI con el intercambio gaseoso.

En mandarino: R con Chl T (a t_1); NIR con Ψ_s e intercambio gaseoso; y NDVI con Ψ_s .

Se concluye, por consiguiente, que las imágenes multiespectrales utilizando un UAV, son una herramienta útil para detectar cambios en las propiedades fisiológicas y estructurales de cítricos sometidos a estrés salino e hídrico.

IV.3 PUBLICACIÓN N° 3

TÍTULO: Determination of ^{15}N stable isotope natural abundances for assessing the use of saline reclaimed water in grapefruit

Aportaciones más relevantes que ha realizado la doctorando en la publicación: todos los aspectos contenidos en el mismo, desde el muestreo en campo, los análisis de laboratorio, el procesado y tratamiento estadístico de los datos así como la redacción del mismo han sido realizados por Cristina Romero Trigueros, bajo la supervisión de los directores.

IV.3.1 Resumen en castellano

“Determinación de la abundancia natural del isótopo estable ^{15}N para evaluar el riego con agua regenerada en cultivos de pomelo”.

Resumen

El trabajo contiene un estudio isotópico que evalúa los efectos a medio y largo plazo del riego con aguas de diferente calidad y de la aplicación de estrategias de riego deficitario controlado (RDC) en la ecofisiología de árboles de pomelo en el sureste de España. Se empleó la abundancia natural (δ) de ^{15}N a nivel foliar con el objetivo de mejorar el conocimiento sobre las interacciones entre el nitrógeno isotópico y las sales procedentes del agua regenerada (AR). Los resultados mostraron que el riego con AR incrementó los niveles de $\delta^{15}\text{N}$: i) se encontró una correlación positiva entre los niveles del isótopo y los contenidos de Cl^- y Na foliar en todos los tratamientos; ii) el exceso de nitratos procedente del AR no fue absorbido por los árboles sino que se perdió en el ecosistema principalmente por procesos de lixiviación y destrinificación, enriqueciendo el medio con $\delta^{15}\text{N}$ y, por tanto, incrementado los niveles de $\delta^{15}\text{N}$ en planta. Se destaca el papel clave que pueden jugar las sales procedentes del AR en la absorción de N por parte de la planta y, consecuentemente, en la discriminación isotópica del N foliar. Por consiguiente, las medidas de la abundancia de ^{15}N son útiles para predecir la sostenibilidad de cultivos de cítricos a medio y largo plazo cuando se usan aguas de diferente calidad agronómica combinada con estrategias de RDC.

1. Introducción y objetivo

El incremento de la productividad agrícola de una manera sostenible, conservando el agua y previniendo la contaminación del suelo con nitratos es, actualmente, uno de los principales retos de la investigación agronómica a nivel de ecosistema. Es sabido que el agua es el factor de producción más limitante, especialmente en áreas donde hay periodos de escasez hídrica o donde la agricultura depende en gran medida del riego. Por consiguiente, es necesario evaluar fuentes de agua alternativas y estrategias como el riego deficitario controlado (RDC). En este sentido, la reutilización del agua regenerada (AR) está siendo integrada en la gestión de fuentes de agua y es considerada como una parte integral del control de la contaminación medioambiental. El AR puede ser beneficiosa para los cultivos dado que la presencia de macronutrientes (N, P, K) puede ayudar a reducir los requerimientos de fertilizantes comerciales, dando lugar a importantes ahorros, por ejemplo, de nitratos (Fonseca et al., 2007). No obstante, se requiere una gestión adecuada y cuidadosa del N para que el aporte de este nutriente a la planta se incremente (Laslo et al., 2012) y se obtenga un nivel óptimo de eficiencia en el uso del nitrógeno. Por otro lado, en la región de Murcia, zona agronómica semiárida, el 93% del AR tiene una conductividad eléctrica por encima de $2 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ y un 37% por encima de $3 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ (ESAMUR, 2013). La salinidad está entre los factores ambientales más importantes responsables de pérdidas sustanciales de producción en la agricultura a nivel mundial y es, además, uno de los serios problemas que confronta la viabilidad a largo plazo de la agricultura en sistemas de producción regados con AR en regiones semiáridas (Ravindran et al., 2007). Esto es un inconveniente, especialmente en el cultivo de cítricos, ya que son de gran importancia a nivel mundial y sensibles a la salinidad (Al-Yassin, 2005). Los estudios han demostrado que el exceso de cloruro y de sodio puede ser fitotóxico para los cítricos (Grattan et al. al., 2013).

Además, los efectos del riego con AR salina sobre el ciclo del N en los agroecosistemas son relativamente poco conocidos. En este sentido, los métodos relacionados con los isótopos estables surgieron como una de las herramientas más eficaces para avanzar en la comprensión de las relaciones entre las plantas y su entorno. La composición isotópica foliar depende, en su mayoría, de las condiciones ambientales que han prevalecido durante la formación de la hoja. Concretamente, el enriquecimiento del isótopo ^{15}N en la hoja, $\delta^{15}\text{N}$, viene determinado por relación de los isótopos de la fuente de N externa y de los mecanismos fisiológicos internos de la

planta (Evans, 2001), tales como el fraccionamiento de $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ durante la asimilación del N, su translocación por las diferentes partes de la planta y/o su pérdida. Para avanzar en el conocimiento sobre la adquisición y la distribución del N en las plantas es necesario mejorar la comprensión de los principales factores que controlan el $\delta^{15}\text{N}$ foliar.

Hay estudios que han evaluado el efecto del estrés hídrico/salino y/o de los aportes de nitrógeno en la composición isotópica del nitrógeno de la planta en cultivos de cereal (Khelil et al., 2013ab) o plántulas de pino (Marañón-Jiménez et al., 2013). Sin embargo, son escasos los estudios del $\delta^{15}\text{N}$ en cultivos leñosos regados durante largos periodos de tiempo (es decir, varios años) con agua salina debido al elevado costo y al tiempo requerido.

El ensayo aquí descrito es el primero en evaluar la sostenibilidad del riego con AR combinado con RDC tras cinco años, mediante medidas isotópicas en árboles de pomelo bajo condiciones de campo para explicar las relaciones entre la salinidad y la abundancia natural de ^{15}N y evaluar la utilidad del $\delta^{15}\text{N}$ como integrador fisiológico e indicador de la eficiencia en el uso del nitrógeno.

Los objetivos concretos fueron: i) medir las variaciones del $\delta^{15}\text{N}$ foliar en relación a las diferentes aguas y estrategias de riego; ii) correlacionar estas medidas con la acumulación de elementos fitotóxicos; y iii) evaluar la utilidad del $\delta^{15}\text{N}$ como un indicador de la sostenibilidad del cultivo a medio y largo plazo.

2. Materiales y métodos

Por un lado, se muestrearon veinte hojas por árbol (diez árboles por tratamiento) periódicamente durante el ciclo de cultivo del año 2012, desde el día del año (DDA) 72 hasta el 345, entre las 7.00-9.00 GMT, para determinar los elementos fitotóxicos, sodio y boro mediante espectrometría de emisión con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-iCAP 6500 DUO Thermo, Cambridge, UK) y los cloruros mediante cromatografía iónica con un cromatógrafo Metrohm (Suiza).

Por otro lado, se muestrearon dos hojas por árbol (diez árboles por tratamiento) los DDA 145 (24/05/2012), 234 (22/08/2012) y 345 (11/12/2012) y se transportaron refrigeradas para determinar su área foliar en el mediador de área (LI-3100 Leaf Area Meter, Li-cor, USA), el contenido total de N (Leco TruSpec, Saint Joseph,

USA) y con ambos parámetros calcular el nitrógeno en base al área foliar (N_{area} , $gN \cdot m^{-2}$). Además, también se determinó el isótopo ^{15}N (Figura IV.21 y 4.22)

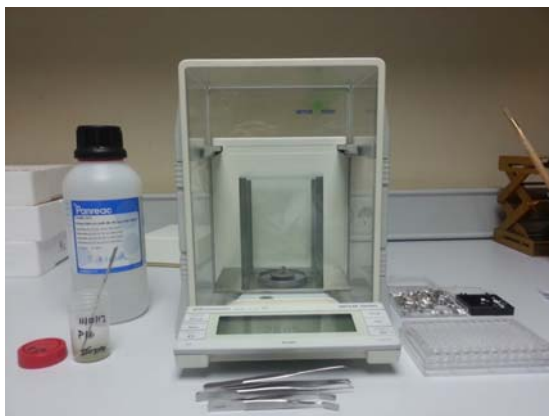


Figura IV.21. Balanza de precisión Mettler Toledo y cápsulas de estaño para material sólido vegetal. Fuente: Propia.



Figura IV.22. Detalle de las cápsulas de estaño 5 x 9 mm. Fuente: Propia.

Los análisis del $\delta^{15}N$ se realizaron en el “Stable Isotope Facility” de la Universidad de California (Davis, USA) mediante espectrometría de masas de Relaciones Isotópicas de Flujo Continuo (CF-IRMS, Europa Scientific, Crewe, UK) (<http://stableisotopefacility.ucdavis.edu/>) (Figura IV.23).

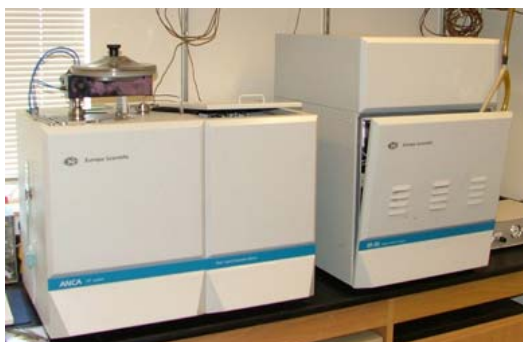


Figura IV.23. Espectrómetro de masas de Relaciones Isotópicas de Flujo Continuo, CF-IRMS. Fuente: Página web del Stable Isotope Facility, UC Davis.

Las medidas de las relaciones isotópicas de N se expresan en milésimas (‰), siguiendo la notación delta clásica (δ), donde $\delta^{15}\text{N} = [(R_{\text{muestra}} - R_{\text{referencia}}) / R_{\text{referencia}}] \cdot 1000$, donde $R = 15\text{N}/14\text{N}$. El estándar de referencia internacionalmente aceptado fue el N_2 atmosférico (‰). La precisión de las medidas fue $\leq 0.18\text{‰}$ para las diez réplicas de material foliar por tratamiento y día de muestreo.

Para el análisis estadístico de los datos se realizó un análisis de la varianza ponderado (ANOVA; software estadístico IBM SPSS Statistics v. 21 para Windows. Chicago, USA) seguido del Test de Tukey HSD ($P < 0.05$) para la separación de las medias.

3. Diseño experimental

3.1 Condiciones del ensayo y del material vegetal

La finca experimental y los tratamientos de riego fueron los mismos que los descritos en el apartado 2.1 de la publicación nº 2 de esta Memoria. La parcela de estudio, en este caso, fue la de pomelo. No obstante, se recuerdan a continuación los aspectos más relevantes:

El ensayo fue llevado a cabo en 2012 en árboles de pomelo ‘Star Ruby’ de 11 años de edad (*Citrus paradisi* Macf) injertados sobre patrón *Macrophylla* [*Citrus Macrophylla*].

3.2 Tratamientos de riego y calidad de agua

La parcela experimental se regó con dos fuentes de agua diferentes desde 2007. La primera de ellas procedente del trasvase Tajo-Segura (AT), considerada de

buena calidad agronómica ($1 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$), y la segunda de ellas desde la EDAR del norte de Molina de Segura (AR) (Figura IV.24), caracterizada por tener un elevado nivel nutrientes (N –nitratos-, P, K) y de sales, con una conductividad eléctrica final elevada $\approx 3 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$.



Figura IV.24. Estación depuradora de aguas residuales de Molina de Segura.

Fuente: Página web DAM.

Para cada fuente de agua se establecieron dos tratamientos de riego. El primer tratamiento fue un riego Control (C) para satisfacer completamente las necesidades hídricas del cultivo ($100\% \text{ ET}_c$) a lo largo de todo el ciclo de cultivo. El segundo fue un tratamiento de Riego Deficitario Controlado (RDC) regado de forma similar al C, excepto durante la segunda fase de crecimiento rápido del fruto cuando la cantidad de agua aplicada se redujo a la mitad ($50\% \text{ ET}_c$) (Figura IV.25).

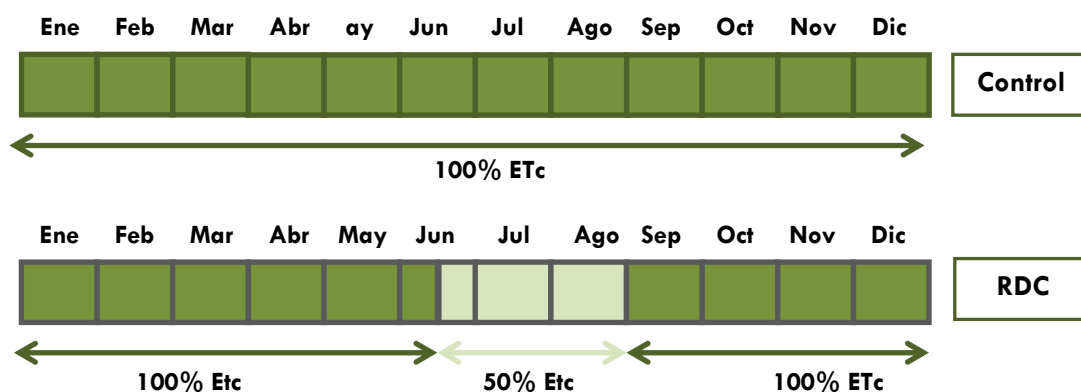


Figura IV.25. Esquema tratamientos de riego: Control y riego deficitario controlado (RDC). Fuente: Propia.

4. Resultados y discusión

Dada la respuesta integradora de la composición isotópica foliar a las restricciones ecofisiológicas a través del tiempo, el $\delta^{15}\text{N}$ puede informar de las condiciones ambientales que prevalecieron durante la formación de la hoja y de la forma de N (fuente) más utilizada por la planta (Querejeta et al., 2008)

El ciclo vegetativo se dividió en 3 períodos fenológicos: etapa I (DDA 72-145), etapa II (DDA 152-234) y etapa III (DDA 247-345).

4.1 Cambio estacional de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en hoja

En las tres etapas (I, II y III), el riego con AR dio lugar a un enriquecimiento significativo del $\delta^{15}\text{N}$ en la hoja, principalmente en el tratamiento de AR-C más que en el AR-RDC. En concreto, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ del tratamiento AR-C se incrementaron un 69, un 122 y un 101% respecto al AT-C. Sin embargo, ni el contenido total de N ni el N_{area} medido en las mismas hojas fueron significativamente mayores en los tratamientos de AR en ninguno de los tres análisis realizados. Es decir, la mayor concentración en nitratos del AR no aumentó la absorción de N por parte de la planta en ninguna fase fenológica, de acuerdo con los resultados encontrados en Khelil et al. (2013b). Por consiguiente, la absorción de nitratos depende de factores internos relacionados con la demanda de N de la planta más que con la disponibilidad de nitratos en el suelo (Cerezo et al., 2007). Respecto al N_{area} , este mostró una tendencia a aumentar a lo largo del ciclo vegetativo, siendo los valores de la etapa I significativamente menores

respecto al resto, dado que todos los tratamientos presentaron la máxima área foliar en dicho momento, de acuerdo con los resultados de Albrigo et al. (2005).

A continuación se exponen las explicaciones del patrón encontrado para el $\delta^{15}\text{N}$:

a) Tratamientos de AT: cuando las plantas crecen bajo una concentración de nitratos moderada o normal en el sustrato, el fraccionamiento entre ^{15}N y ^{14}N es casi nulo durante la absorción de nitratos por parte de las raíces y su incorporación en los distintos tejidos de la planta (Shearer y Kohl, 1986); es decir, las plantas no discriminan entre ^{15}N y ^{14}N durante la absorción y asimilación de nitratos (Mariotti et al. 1982).

b) Tratamientos de AR: la discriminación se incrementa con la concentración externa de nitratos (Evan, 2001) dado que hay una relación cercana entre la disponibilidad de nitrógeno inorgánico en el suelo y los valores de ^{15}N en la hoja (Robinson, 2001). El AR tiene una concentración más alta de nitratos que el AT y, por consiguiente, el agrosistema de los tratamientos regados con AR presenta un excedente de entradas de N respecto a las salidas (exceso de N) pudiendo ser almacenado en el suelo o percolado principalmente por procesos de lixiviación y desnitrificación (Dawson et al., 2002; Bedard-Haughn et al., 2003; Steven et al., 2005; Watzka et al., 2006; Craine et al., 2009; Marañón-Jiménez et al., 2013). Todas estas transformaciones de N en cualquier agrosistema conducen al fraccionamiento isotópico del N: el ^{14}N es más ligero (menor peso molecular) y reacciona más rápidamente que el ^{15}N (mayor peso molecular) dando lugar a que la fuente de N residual (suelo) se enriquezca en ^{15}N .

Resumiendo, la elevada presencia de ^{15}N en planta está relacionada con la ineficiencia del sistema agrario (Kriszan et al., 2009) dado que el enriquecimiento en ^{15}N en planta es un indicador de la ineficiencia en el uso y gestión del N en el agrosistema (Destain et al., 2010). Por tanto, una mayor eficiencia en el uso del N puede ser alcanzada reduciendo las aplicaciones de N cuando el cultivo es regado con AR, la cual contiene normalmente concentraciones elevadas de nitratos.

Respecto a la tendencia estacional del $\delta^{15}\text{N}$, independientemente del tratamiento evaluado, se observaron los valores significativamente más altos en el análisis de primavera (etapa I) y los más bajos en el periodo de crecimiento del fruto (etapa II). Esto pudo ser debido a las fluctuaciones encontradas en el contenido de sales en hoja (sodio y cloruros): durante la etapa I los árboles mostraron las mayores concentraciones de sales y durante la etapa II las menores. Otra posible explicación alternativa y/o complementaria a esta variación estacional del $\delta^{15}\text{N}$, se basa en la translocación diferencial de los isótopos de nitrógeno dentro del árbol. Varios estudios de translocación de nutrientes en árboles mostraron que el N almacenado en los tejidos leñosos es la principal fuente de N de las hojas de nueva formación durante la primavera. También, es sabido que la translocación de N durante procesos de crecimiento de la planta (como la brotación) da lugar a productos con menor $\delta^{15}\text{N}$ que la fuente original (Evans, 2001). En este sentido, durante la brotación de las hojas nuevas, la planta libera una gran cantidad de N reciclado desde los tejidos leñosos y/o hojas más viejas hacia las hojas nuevas. Es de esperar que, en nuestro caso, los tejidos fisiológicamente más activos durante la etapa I (los nuevos brotes que reciben el N reciclado) tengan un enriquecimiento menor de $\delta^{15}\text{N}$ comparado con los tejidos de las hojas más viejas. Estos nuevos brotes fueron las hojas adultas que se muestrearon en la etapa II. Esto explicaría por qué en dicha etapa II todos los tratamientos presentarían valores más bajos de $\delta^{15}\text{N}$ que en la etapa I. En concreto, el AT-C disminuyó en mayor porcentaje que el resto debido probablemente a que los árboles no estuvieron bajo estrés salino y hubo una mayor movilización de reservas.

4.2 Efecto de la salinidad en los valores foliares de $\delta^{15}\text{N}$

Los datos de $\delta^{15}\text{N}$ foliar se correlacionaron positivamente con las concentraciones de sales en hoja. Considerando las regresiones lineales obtenidas ($\delta^{15}\text{N}=6.001\cdot\text{Cl}^- - 1.115$ ($r^2=0.67^{**}$) ($P<0.01$) y $\delta^{15}\text{N}=13.509\cdot\text{Na} + 0.691$ ($r^2=0.79^{***}$) ($P<0.001$), un aumento de la concentración de Cl^- de 0.3 a 0.8 $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ daría lugar a un incremento de 5.4 veces del $\delta^{15}\text{N}$ y, un aumento de 0.02 a 0.25 $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de la concentración de Na, multiplicaría por 3.7 el valor de $\delta^{15}\text{N}$. La pendiente de regresión del Na fue más del doble que la pendiente del Cl^- , por consiguiente, se consideró que el sodio fue el elemento fitotóxico que más influyó en el enriquecimiento del ^{15}N . En el caso del tratamiento AR-RDC, éste mostró valores de $\delta^{15}\text{N}$ ligeramente inferiores al AR-C. Este comportamiento respondió al contenido de Na en hoja: (0.108 and 0.070 $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ para el AR-C y AR-RDC, respectivamente).

5. Conclusiones

Para evaluar la sostenibilidad a medio y largo plazo en cultivos de pomelo regados con agua regenerada combinado con riego deficitario controlado, se usaron medidas nutricionales y de rasgos estructurales a nivel foliar y mediciones isotópicas. Nuestro estudio demostró que los árboles de pomelo regados con AR, sobre todo el tratamiento sin restricciones hídricas, presentaron valores significativamente más elevados de ^{15}N foliar que los regados con agua de buena calidad agronómica. Por consiguiente, se estima que (i) la correlación positiva entre el $\delta^{15}\text{N}$ y el contenido foliar de sodio y cloruros sugiere que hay vínculos causales entre los niveles de $\delta^{15}\text{N}$ y el estrés salino; (ii) el exceso de nitratos procedente del agua regenerada se pierde en el agrosistema principalmente por lixiviación y desnitrificación, enriqueciendo el medio con $\delta^{15}\text{N}$ e incrementando su valor en la planta. Por lo tanto, se ha demostrado la utilidad de la medición de la discriminación isotópica como un indicador de sostenibilidad a medio y largo plazo.

IV. 4 PUBLICACIÓN N° 4

TÍTULO: Effect of deficit irrigation and reclaimed water on yield and quality of grapefruits at harvest and postharvest

Aportaciones más relevantes que ha realizado la doctorando en la publicación: todos los aspectos contenidos en el mismo, desde el muestreo en campo, los análisis de laboratorio, el procesado y tratamiento estadístico de los datos así como la redacción del mismo han sido realizados por Cristina Romero Trigueros, bajo la supervisión de los directores.

IV.4.1 Resumen en castellano

“Efecto del riego deficitario y el agua regenerada sobre la producción y la calidad de frutos de pomelo en cosecha y postcosecha”

Resumen

El objetivo de la investigación fue evaluar los efectos a largo plazo en la producción y la calidad de la fruta de árboles de pomelo regados con agua regenerada salina (AR) y agua del trasvase (AT) bajo diferentes estrategias de riego: control (C) y riego deficitario controlado (RDC), en el momento de la cosecha y durante su conservación en postcosecha (almacenaje en frío). Los resultados mostraron una disminución del volumen del dosel vegetal (DV) y de la carga de frutos en el tratamiento AT-RDC, dando lugar a una disminución en la producción total del 21%. Respecto a la calidad de la fruta, el riego con AR disminuyó notablemente el espesor de la corteza en el momento de la cosecha (sobre un 8%); sin embargo, no se mantuvo esta diferencia durante el almacenaje. El riego con AR (AR-C) y la aplicación del RDC (AT-RDC, o AR-RDC) principalmente, incrementaron el cociente sólidos solubles totales (SST) /acidez debido a un incremento significativo de los SST ($\approx 11\%$). Por otra parte, el riego con AR combinado con RDC aumentó el número de frutos de categoría 5 (categoría más pequeña) al final del periodo de postcosecha. Finalmente, ni el cociente producción total / DV, ni la productividad del agua de riego se vieron afectadas por los tratamientos.

1. Introducción y objetivo

Se ha demostrado que el riego deficitario controlado (RDC) puede mejorar la calidad de la fruta en los cítricos (García-Tejero et al., 2010). Sin embargo, una gestión

inadecuada del riego con agua regenerada (AR) puede impactar negativamente en la producción y en la calidad de los mismos (Nicolás et al., 2016). En este sentido, según Navarro et al. (2010), el uso de AR disminuye la producción de mandarina debido tanto a la reducción del número de frutos como a la reducción del peso de los mismos; sin embargo, incrementa los sólidos solubles totales en zumo. Prior et al. (2007) también encontraron que el riego con agua regenerada de 2.5 dS m^{-1} causa una reducción de la producción del naranjo debido a la disminución del tamaño del fruto.

El mantenimiento de la calidad de la fruta una vez cosechada depende, en gran medida, de las condiciones del almacenaje. Sin embargo, las condiciones ambientales y los factores agronómicos, como la calidad del agua de riego y las estrategias de riego, también tienen una marcada influencia en la calidad de la fruta durante la conservación en postcosecha (Fischer, 2000). Los trabajos que evalúan la calidad de la fruta en postcosecha tras haber sido regados con RDC son muy escasos (ej. Conesa et al., 2014) y, en el caso de utilización de AR, no se conoce ninguno. Por tanto, el trabajo aquí presentado es el primero que estudia la calidad de los frutos, de árboles de pomelo regados con AR combinada con RDC durante ocho años consecutivos, en el momento de la cosecha y durante un periodo de conservación en frío de 31 días (postcosecha).

2. Materiales y métodos

2.1 Diseño experimental y tratamientos de riego

El experimento fue llevado a cabo durante el periodo 2013-2015 en frutos procedentes de la misma finca comercial de cítricos citada en las publicaciones anteriores. En este caso, la parcela experimental fue cultivada con árboles de pomelo ‘Star Ruby’ de 9 años de edad (en 2013) (*Citrus paradisi* Macf) injertados sobre patrón *Macrophylla* [*Citrus Macrophylla*]. Igualmente, desde el año 2007 los árboles se regaron con dos fuentes de agua diferentes. La primera de ellas procedente del trasvase Tajo-Segura (AT), considerada de buena calidad agronómica ($1 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$), y la segunda de ellas desde la planta de tratamiento terciario de aguas residuales del Norte de Molina de Segura (AR), caracterizada por tener un elevado nivel nutrientes (N, P, K) y de sales, con una conductividad eléctrica elevada $\approx 3 \text{ dS m}^{-1}$.

Para cada fuente de agua se establecieron dos tratamientos de riego. El primer tratamiento fue un riego control (C) a lo largo de todo el ciclo de cultivo para satisfacer completamente las necesidades hídricas del cultivo ($100\% \text{ ET}_c$). El segundo fue un

tratamiento de riego deficitario controlado (RDC) regado similarmente al C, excepto durante la segunda fase de crecimiento rápido del fruto cuando la cantidad de agua aplicada se redujo a la mitad (50% ET_c).

La cantidad total de agua aplicada a los tratamientos C y RDC fueron 5938 y 5055 $m^3\ ha^{-1}$ en 2013, 6125 y 5010 $m^3\ ha^{-1}$ en 2014 y 5929 y 4883 $m^3\ ha^{-1}$ en 2015, respectivamente, lo que supuso un ahorro medio de 17% en las estrategias de RDC frente al C.

El ensayo se diseñó en bloques aleatorios con 4 repeticiones. Cada repetición consta de 3 filas con 4 árboles cada una. Los 2 árboles centrales de las filas centrales se usaron para las mediciones y el resto actuó como filas borde.

2.2 Crecimiento vegetativo, producción y calidad del fruto

Se evaluaron ocho árboles por tratamiento durante el período 2013-2015 en los que se determinó: i) el volumen del dosel vegetal (DV), ii) la carga de frutos, iii) la producción total, iv) el peso y diámetro del fruto, v) el peso específico calculado como peso x diámetro del fruto $^{-1}$ y vi) el potencial hídrico del tallo (Ψ_s). El DV se estimó a partir de la altura y el diámetro de copa del árbol, considerándolo como una unidad en forma de pirámide (Hutchinson, 1977). Además, para evaluar el rendimiento de la cosecha se calculó el cociente producción total/DV. El Ψ_s fue medido en hojas próximas al tronco envueltas en papel de aluminio al menos 2 h antes de la medida con una cámara de presión (modelo 3000; Soil moisture Equipment Corp., California, USA). La productividad del agua de riego (PA) se calculó como el cociente entre la producción anual ($kg\cdot ha^{-1}$) y la cantidad de agua aplicada ($m^3\cdot ha^{-1}$).

Los frutos se cosecharon en 2013, 2014 y 2015 (Figura IV.26 y 4.27) y la calidad de los mismos fue determinada en 40 piezas seleccionados al azar (10 por repetición) cada año.



Figura IV.26. Peso (A) y calibración (B) de frutos en cosecha.

Fuente: Propia.



Figura IV.27. Muestreo de fruta para evaluar la calidad en laboratorio.

Fuente: Propia.

Por otra parte, los frutos del segundo corte de la cosecha de 2015 se utilizaron para el estudio de conservación en postcosecha. Se almacenaron aproximadamente 90 frutos por tratamiento en la oscuridad a 10°C y 85% de humedad relativa durante 31 días. Los parámetros destructivos de calidad fueron medidos en 15 frutos por tratamiento en diferentes días del almacenaje (día 0, 10, 17, 24 y 31). La pérdida de

peso fue también determinada en cada fecha de muestreo pero en otros 10 frutos por tratamiento que se mantuvieron identificados durante todo el periodo de almacenamiento.

Los parámetros de calidad evaluados fueron espesor de corteza, índice de color, contenido en zumo, sólidos solubles totales (SST) (Figura IV.28), acidez titulable (TA) y cociente SST/TA (Figura IV.29). El espesor de corteza se determinó usando un calibre digital. El color se midió en dos zonas del plano ecuatorial del fruto con un colorímetro Minolta CR-300. El índice de color se calculó con los parámetros Hunterlab L , a y b como $(a \times 1000) / (L \times b)$, donde L indica luminosidad y a y b son coordenadas de cromaticidad (Jiménez-Cuesta et al., 1981). El contenido en zumo se calculó como el peso del zumo / peso del fruto $\times 100$. Los SST y la TA se determinaron de acuerdo con Nicolás et al. (2016). El ratio SST/TA indicó, en este caso, tanto la madurez del fruto en campo como la percepción del gusto por parte del consumidor y la calidad del zumo durante el periodo postcosecha. Por último, se establecieron las categorías comerciales para los frutos de postcosecha de acuerdo a la Norma Codex (Codex Stan 219, 1999).



Figura IV.28. Equipos de medida de la calidad: Calibre, colorímetro, refractómetro, exprimidor y balanza. Fuente: Propia.



Figura IV.29. Valorador automático ácido-base Ω Metrohm. Fuente: Propia.

Para evaluar las diferencias entre tratamientos se realizó un análisis de varianza ponderado (ANOVA; software estadístico IBM SPSS Statistics v.21 para Windows)

seguido del test de comparación múltiple de Tukey HSD ($P \leq 0.05$). Los datos de las Tablas 2 y 3 fueron analizados utilizando un ANOVA de dos vías: en primer lugar, con la fuente y la cantidad de agua como factores principales y, en segundo lugar, con el tratamiento y el año (2013, 2014 y 2015). Los porcentajes de pérdida de peso del fruto de la Figura 2A se analizaron con un ANOVA de dos vías para medidas repetidas. Estos valores porcentuales se transformaron en base al arcoseno antes del análisis estadístico. El resto de los parámetros de calidad de la Figura 2 fueron analizados con un ANOVA de dos vías para examinar la interacción entre tratamiento y tiempo. Por último, se calcularon regresiones lineales entre parámetros de calidad y tiempo para estudiar si un cierto parámetro aumentó o disminuyó durante el almacenamiento. Para evaluar la importancia de estas relaciones se utilizaron los coeficientes de correlación de Pearson. Todos los análisis estadísticos se realizaron con SPSS (vers. 23.0 para Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3. Resultados y discusión

3.1 Producción y calidad del fruto en cosecha

Dado que las interacciones entre tratamiento y año para los diferentes parámetros evaluados no fueron significativas se muestra el valor medio del periodo 2013-2015 de los mismos.

El RDC dio lugar a una disminución del volumen del dosel vegetal (DV), independientemente de la calidad del agua de riego, de acuerdo con otros estudios como el de Pedrero et al. (2014) en cítricos. Además, afectó negativamente la carga de frutos, de acuerdo con los resultados encontrados en Pedrero et al. (2013) para mandarino y Pérez-Pérez et al. (2015) para pomelo.

Respecto al peso del fruto, tanto el RDC como el riego con AR lo disminuyeron, siendo el efecto más notable en el tratamiento que combina ambos estreses en 2015.

El diámetro del fruto se redujo en el tratamiento AT-RDC (periodo 2013-2015) y en los tratamientos regados con AR (2015), coincidiendo con los valores más bajos de peso específico. Esto pudo ser debido a una menor acumulación de materia seca (Cohen y Goell, 1998) o a la deshidratación de los mismos causada por el estrés hídrico o salino.

La reducción del DV y la carga de frutos ocasionada por el RDC dio lugar a una disminución de la producción total, de acuerdo con los resultados de Pérez-Pérez et al. (2014). No obstante, no hubo diferencias significativas entre tratamientos en el cociente producción total/DV.

Por otra parte, a pesar del ahorro de agua en los tratamientos de RDC, la PA tampoco varió significativamente entre tratamientos.

Por consiguiente, la aplicación del RDC, en este caso, no fue un sistema más eficiente que el tratamiento C en cuanto a la producción total, que se vio afectada por la disminución del dosel vegetal, ni en cuanto a la PA, que no mejoró.

Respecto a la calidad del fruto, el espesor de corteza fue menor en los tratamientos regados con AR, principalmente en el AR-RDC. En contraste, Pérez-Pérez et al. (2014) encontró un incremento en el espesor de la corteza de pomelos regados con agua salina. Esto puede ser explicado por los diferentes patrones empleados. El contenido en zumo sólo disminuyó en el tratamiento AT-RDC en 2015 causado, entre otros factores, por un potencial hídrico de tallo significativamente más negativo que el resto de tratamientos a lo largo del año. Pérez-Pérez et al. (2014, 2015) encontraron también una reducción del contenido de zumo en tratamientos con RDC, debido a procesos de deshidratación o a cambios internos en la estructura de la fruta. El ratio SST/TA mejoró en todos los tratamientos respecto al control debido a que el incremento de los SST fue mayor que el de la acidez. Estos resultados orientan sobre la precocidad de la cosecha, que podría haber sido adelantada en estos tratamientos siempre que el tamaño de los frutos hubiera sido el adecuado desde el punto de vista comercial. El valor de mercado del pomelo está determinado, entre otros factores, por su contenido en SST; por consiguiente, un incremento de este parámetro podría ser más relevante desde el punto de vista económico que por la precocidad lograda en campo. Otros autores como Navarro et al. (2010) y Pérez-Pérez et al. (2014, 2015) también encontraron incrementos de los SST y TA en cítricos sometidos a estrés hídrico y salino. Sin embargo, en Pedrero et al. (2015) los pomelos de la misma parcela de este ensayo no mostraron diferencias en el cociente SST/TA dado que las medidas fueron tomadas durante los tres primeros años de aplicación del AR y el RDC (2008-2010). Además, la calidad del fruto puede estar afectada por la carga de frutos del árbol y, por tanto, sería necesaria una carga similar en ambos periodos para poder comparar realmente los parámetros de calidad.

3.2 Calidad del fruto durante la postcosecha

Los datos mostrados en este apartado son el resultado combinado del efecto de los tratamientos en el campo (AR y RDC) y de la conservación en frío durante la postcosecha, excepto para los datos de pérdida de peso los cuales son expresados en porcentaje del peso inicial, eliminando así las diferencias debido a las condiciones de campo.

Al inicio de la conservación en postcosecha (día 1), no se observaron diferencias entre tratamientos en el espesor de corteza, índice de color y TA. Sin embargo, a lo largo de la misma, la pérdida de peso del fruto sí mostró diferencias entre tratamientos, siendo el AR-RDC el menos afectado. Este hecho estuvo relacionado con la disminución del diámetro de fruto que se observó en todos los frutos a lo largo del periodo de almacenamiento, siendo más notable en dicho tratamiento AR-RDC. Respecto al espesor de la corteza, disminuyó similarmente en todos los tratamientos y, dado que la transpiración ocurre en mayor proporción por la piel que a través de la pulpa (Liu et al., 2006 y Yapo, 2009), la reducción de este parámetro influyó en gran medida en la pérdida de peso. No hubo diferencias entre tratamientos de AR y de AT, como sí se mostraron en la cosecha (apartado 3.1). El índice de color mostró una tendencia a incrementar durante la conservación en postcosecha, principalmente en los tratamientos control. La baja temperatura de la postcosecha resultó en una disminución del cociente clorofila/carotenoides del flavedo debido a una degradación de la clorofila, según Power et al. (1997). El contenido del zumo también se incrementó durante el almacenamiento dado que se calculó en base al peso del fruto (el AT-RDC tuvo el menor contenido, como en la cosecha).

Por otra parte, a pesar de que el pomelo es un fruto no climatérico, los SST se incrementaron debido a un efecto concentración, dada la pérdida de peso. TA y el ratio SST/TA no mostraron una tendencia clara a lo largo de la conservación en postcosecha. En los tratamientos regados con AR y con RDC, el cociente SST/TA mostró un aumento significativo mayor que el observado en el día de la cosecha y en el día 0 de postcosecha. Este resultado es relevante dado que el zumo es producido en las industrias de todo el mundo en base a la preferencia del sabor de los consumidores.

Respecto a la categoría de los frutos -categoría 3 (100-120 mm), categoría 4 (93-100 mm), categoría 5 (84-93 mm)-, al inicio de la conservación en postcosecha, la calidad del agua no afectó a las mismas. Sin embargo, la restricción del agua si dio

lugar a frutos de menor tamaño. Al final del periodo postcosecha y, como era de esperar, todo los tratamientos disminuyeron el porcentaje de frutos de categoría 3 e incrementaron la de 4 y 5, principalmente los tratamientos de AT-RDC y AR-RDC en los cuales se incrementaron la categoría 5 un 20 y un 30%, respectivamente.

4. Conclusión

En regiones semiáridas las estrategias de riego con AR combinadas con RDC son necesarias para el mantenimiento de la agricultura pero, sin embargo, falta todavía un mayor conocimiento sobre sus efectos a largo plazo. La novedad de este artículo radica en la evaluación de la calidad del pomelo después de ser regado con AR combinado con RDC durante 8 años. Los resultados mostraron que el RDC disminuyó el volumen del dosel vegetal, la carga de fruto y, por tanto, la producción total. Sin embargo, el AR no afectó a la producción total aunque disminuyó ligeramente el diámetro de fruto. A pesar de los parámetros mencionados, ni el cociente producción total/volumen dosel vegetal, ni la productividad del agua de riego fueron afectados por las restricciones impuestas por el RDC. La combinación del AR y RDC dio lugar a un incremento de frutos de menor calibre (categoría 5) al final de la conservación en postcosecha. Por último, tanto el RDC como el AR incrementaron los SST, mejorando así el sabor del zumo.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES

A continuación se detallan las principales conclusiones derivadas del presente trabajo de investigación:

- 1. La medida clorofila foliar es el mejor indicador de diagnóstico del estrés salino en árboles de pomelo regados con agua regenerada (AR) a medio y largo plazo:**
 - 1.1 El contenido de clorofila fue el indicador con mayor número de medidas significativamente diferentes entre tratamientos ($p < 0.05$) de todos los indicadores evaluados.
 - 1.2 El contenido de N foliar es un factor determinante en el contenido de clorofila. En este sentido, se encontró que la clorofila *a* se correlacionó con el nitrógeno en base al área ($p < 0.001$) y al peso específico foliar ($p < 0.001$), ayudando así a la acumulación de carbohidratos. Por consiguiente, la concentración de clorofila foliar fue un buen indicador del contenido en nitrógeno.
 - 1.3 Además, el nivel de clorofila también estuvo relacionado con parámetros del estado hídrico de la planta, tales como el potencial hídrico de tallo, la conductancia estomática y la fotosíntesis neta.
- 2. Se establecieron los límites de Na, Cl y B a partir de los cuales la producción de árboles de pomelo regados con AR se vio afectada: Na: $0.1 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, Cl: $0.6 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ y B: 100 ppm. Se mostró una potencial acumulación de sales a nivel de hoja, lo que conduce a un posible riesgo en la sostenibilidad de este cultivo a medio y largo plazo.**
- 3. El uso de imágenes multiespectrales, adquiridas mediante un sistema aéreo no tripulado (dron), fue validado mediante medidas reales a nivel foliar, ambas llevadas en dos momentos diferentes del día. Se concluyó que son una herramienta útil para detectar cambios en las propiedades fisiológicas y estructurales de pomelos y mandarinos regados con AR y estrategias de riego deficitario controlado (RDC):**

- 3.1 Respecto a las medias a nivel foliar: el riego con AR no afectó al potencial hídrico de tallo en árboles de pomelo; por el contrario, la estrategia de RDC lo disminuyó, a pesar de la reducción encontrada en los parámetros de intercambio gaseoso. El contenido en clorofila total (Chl T) se redujo significativamente en los árboles regados con AR (con o sin RDC) de los dos cultivos.
- 3.2 Respecto a los datos multiespectrales: en pomelo, mostraron que el riego con AR (con o sin RDC) incrementó la reflectancia en la banda espectral R, de acuerdo con la disminución de clorofila medida, y disminuyó el índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI), como indicador del verdor de la vegetación, en consonancia con la reducción del intercambio gaseoso observada. La reflectancia en la banda del infrarrojo cercano (NIR) respondió al estrés hídrico (RDC), independientemente de la calidad del agua. Para el mandarino, el AR aumentó la reflectancia en la banda R, respondiendo a la disminución de clorofila, pero sólo a primera hora de la mañana; cuando el déficit de presión de vapor aumentó, el turgor de hoja de los tratamientos regados con AR se incrementó de manera significativa afectando a la reflectancia de la banda R (los pigmentos de clorofila absorben la radiación R y el aumento de turgor y grosor de hoja disminuyó dicha absorción, dando lugar a que la reflectancia de la banda R no aumentara lo esperado, según los datos de clorofila medidos). Esto no ocurrió en pomelo dado que la aplicación de AR en dicho cultivo no dio lugar a un incremento significativo del turgor. El NDVI disminuyó en los tratamientos de RDC y el NIR, como en pomelo, respondió al potencial hídrico de tallo (Ψ_s).
- 3.3 Se obtuvieron las siguientes correlaciones significativas entre los parámetros de las medidas multiespectrales y las medidas a nivel foliar que corroboraron lo citado anteriormente: En pomelo: R con Chl T y turgor de hoja; NIR con Ψ_s e intercambio gaseoso; y NDVI con el intercambio gaseoso. En mandarino: R con Chl T (a primera hora de la mañana); NIR con Ψ_s e intercambio gaseoso; y NDVI con Ψ_s .
- 3.4 Las imágenes multiespectrales fueron capaces de detectar cambios a lo largo de un mismo día en las propiedades fisiológicas y estructurales.

4. Se demostró la utilidad de la discriminación isotópica del N como un indicador de sostenibilidad y de la eficiencia en el uso del N en los sistemas agrarios:

- 4.1 Los árboles de pomelo regados con AR, sobre todo el tratamiento sin restricciones hídricas, presentaron valores significativamente más elevados de $\delta^{15}\text{N}$ foliar que los regados con agua de buena calidad agronómica.
- 4.2 Se encontró una correlación positiva entre el $\delta^{15}\text{N}$ y el contenido foliar de sodio y cloruros, por lo que hubo una relación causal entre los niveles de $\delta^{15}\text{N}$ y el estrés salino.
- 4.3 El exceso de nitratos procedente del AR se perdió en el ecosistema principalmente por lixiviación y desnitrificación, enriqueciendo el medio con $\delta^{15}\text{N}$ e incrementando el valor de $\delta^{15}\text{N}$ en las plantas.
- 4.4 Las sales procedentes del AR jugaron un papel clave en la absorción de N por parte de la planta y, consecuentemente, en la discriminación isotópica del N foliar.

5. La producción y calidad del fruto de árboles de pomelo fueron afectados por el riego con AR y la estrategia de RDC:

- 5.1 La aplicación del RDC disminuyó significativamente la producción total debido a una reducción del volumen del dosel vegetal y de la carga de fruto, aunque el cociente producción total/volumen dosel vegetal y la productividad del agua de riego no se vieron afectados. Respecto a la categoría de los frutos - categoría 3 (100-120 mm), categoría 4 (93-100 mm), categoría 5 (84-93 mm)-, la restricción de agua dio lugar a frutos de menor tamaño.
- 5.2 El riego con AR no afectó a la producción total, aunque disminuyó ligeramente el diámetro de fruto. En este sentido, la categoría de los frutos tampoco se vio afectada por el la calidad del agua. Por otra parte, el riego con AR disminuyó el espesor de corteza, principalmente en el AR-RDC.
- 5.3 Tanto el RDC como el riego con AR incrementaron los sólidos solubles totales (SST), mejorando así el sabor del zumo. Estos resultados son importantes por el adelanto en precocidad de la cosecha y, con ello, del mayor valor de mercado del pomelo.

6. Durante la postcosecha en frío de los frutos de pomelo procedentes de árboles regados con AR y RDC, se observaron variaciones en los parámetros de calidad:

- 6.1 A pesar de que el pomelo es un fruto no climatérico, los SST se incrementaron debido a un efecto concentración, dada la pérdida de peso a lo largo del periodo de almacenamiento.
- 6.2 Al final del almacenaje, como era de esperar, todo los tratamientos disminuyeron el porcentaje de frutos de categoría 3 e incrementaron la 4 y la 5, principalmente los tratamientos de RDC (AT-RDC y AR-RDC) en los cuales se incrementaron la categoría 5 un 20 y un 30%, respectivamente.
- 6.3 La combinación del AR y el RDC dio lugar a un incremento de frutos de menor calibre (categoría 5) al final de la postcosecha.

Perspectivas de futuro

Se pretenden publicar los resultados obtenidos, en los mismos cultivos y tratamientos de riego de esta Tesis, sobre:

- Los factores hidráulicos y químicos que regulan el cierre estomático (conductividad hidráulica foliar y de ácido abscísico);
- Las correlaciones entre la eficiencia del uso del nitrógeno (fotosíntesis neta/nitrógeno en base al área) y el $\delta^{15}\text{N}$ a largo plazo;
- Las variaciones del contenido foliar de clorofila según el área del dosel vegetal (sombreada/soleada);
- Los efectos de la práctica del anillado;
- Los cambios estructurales y ontogénicos de la hoja a largo plazo;
- La respuesta térmica del cultivo mediante el uso de termoradiómetros y cámaras termográficas.
- La eficiencia en el uso del agua (EUA) mediante técnicas de determinación de los isótopos estables ^{13}C y ^{18}O en tejido foliar.
- Los efectos en la calidad durante la postcosecha en frutos de mandarina.

Además, se considera oportuno realizar los siguientes ensayos sobre nuevos cultivos representativos de la región Mediterránea (en maceta y campo) regados con agua regenerada tratada con un nuevo sistema inteligente, que combina tecnología sostenible en el tratamiento del agua y sensores de calidad del agua, actualmente implantado en Bari, Italia, en el marco del proyecto europeo DESERT (Low-cost water DEsalination and SEnsor Technology compact module):

- Discriminación isotópica - ^{18}O , ^{13}C y ^{15}N - en planta, suelo y agua.
- Conductividad hidráulica foliar.
- Teledetección –imágenes multiespectrales y térmicas- con drones.

CHAPTER V. CONCLUSIONS

V. CONCLUSIONS

The main conclusions derived from this research are below:

1. The leaf chlorophyll measure was the best diagnostic indicator of salt stress in grapefruit trees irrigated with reclaimed water (RW) in the medium and long term:

1.1 Chlorophyll content was the indicator with the greatest number of significantly different measures among treatments ($p < 0.05$) of all the indicators evaluated.

1.2 Leaf N content is a determining factor of chlorophyll level. In this sense, it was found that chlorophyll a correlated with N based on the area ($p < 0.001$) and leaf specific weight ($p < 0.001$). Therefore, leaf chlorophyll content was a good indicator of N content.

1.3 In addition, chlorophyll level was also related to parameters of the plant water status, such as stem water potential, stomatal conductance and net photosynthesis.

2. The Na, Cl and B threshold were established above which the production of grapefruit trees irrigated with RW was affected: Na: $0.1 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, Cl: $0.6 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ and B: 100 ppm. It showed a potential accumulation of salts at leaf level, which leads to a possible risk in the sustainability of this crop in the medium and long term.

3. The use of multispectral images, acquired by means of an unmanned aerial vehicle (drone), was validated by real measurements at leaf level, both carried out at two different times of the day. It was concluded that they are a useful tool to detect changes in the physiological and structural properties of grapefruit and mandarins irrigated with RW and regulated deficit irrigation (RDI) strategies:

3.1 Regarding the means at leaf level: the irrigation with RW did not affect the stem water potential in grapefruit trees; on the contrary, the RDI strategy decreased it, despite the reduction found in gas exchange parameters. The total chlorophyll content (Chl T) was significantly reduced in the trees irrigated with RW (with or without RDI) of the two crops.

3.2 Regarding the multispectral data: in grapefruit, they showed that irrigation with RW (with or without RDI) increased the reflectance in the spectral band R, in accordance with the decrease in chlorophyll measured, and decreased the standardized differential

vegetation index (NDVI), as an indicator of the greenness of vegetation, in line with the reduction in gas exchange observed. The reflectance in the near infrared band (NIR) responded to water stress (RDI), regardless of water quality. For the mandarin, the RW increased the reflectance in the spectral band R, responding to the decrease in chlorophyll, but only early in the morning; when the vapor pressure deficit increased, the leaf turgor of the treatments irrigated with RW increased significantly, affecting the reflectance of the R-band (the chlorophyll pigments absorb the radiation R and the increase in turgor and thickness of the leaf diminish this absorption, giving rise to the reflectance of the R-band not increasing as expected, according to the measured chlorophyll data). This did not occur in grapefruit since the RW application did not result in a significant increase in turgor. The NDVI decreased in the RDI treatments and NIR, as in grapefruit, it responded to stem water potential (Ψ_s).

3.3 The following significant correlations between the multispectral measurements and the parameters measured at leaf level were obtained, which corroborated the aforementioned: In grapefruit: R with Chl T and leaf turgor; NIR with Ψ_s and gas exchange; and NDVI with gas exchange. In mandarin: R with Chl T (first thing in the morning); NIR with Ψ_s and gas exchange; and NDVI with Ψ_s .

3.4 The multispectral images were able to detect changes over the same day in the physiological and structural properties.

4. The utility of N isotope discrimination as an indicator of sustainability and efficiency in the use of N in agricultural systems was demonstrated:

4.1 The grapefruit trees irrigated with RW, especially the treatment without water restrictions, showed significantly higher values of leaf $\delta^{15}\text{N}$ than those irrigated with water of good agronomic quality.

4.2 A positive correlation was found between the $\delta^{15}\text{N}$ and leaf sodium and chlorides contents, so there was a causal relationship between the levels of $\delta^{15}\text{N}$ and saline stress.

4.3 The excess of nitrates from the RW was lost in the ecosystem mainly by leaching and denitrification, enriching the medium with $\delta^{15}\text{N}$ and increasing the value of $\delta^{15}\text{N}$ in the plants.

4.4 The salts from the RW played a key role in the absorption of N by the plant and, consequently, in the isotopic discrimination of the leaf N.

5. Fruit production and quality of grapefruit trees were affected by irrigation with RW and RDI strategy:

5.1 The application of the RDI significantly decreased total production due to a reduction in the volume of the vegetal canopy and the fruit load, although the ratio total production/volume canopy and the productivity of irrigation water were not affected. Regarding the category of fruits -category 3 (100-120 mm), category 4 (93-100 mm), category 5 (84-93 mm) -, water restriction resulted in smaller fruits.

5.2 The irrigation with RW did not affect the total production, although the diameter of the fruit decreased slightly. In this sense, the category of fruits was also not affected by the water quality. On the other hand, irrigation with RW decreased bark thickness, mainly in RW-RDI.

5.3 Both RDI and irrigation with RW increased the total soluble solids (TSS), thus improving the flavor of the juice. These results are important because of the advance in precocity of the harvest and, with it, the higher market value of the grapefruit.

6. During the cold post-harvest of grapefruit fruits from trees irrigated with RW and RDI, variations in quality parameters were observed:

6.1 Although the grapefruit is a non-climacteric fruit, the TSS increased due to a concentration effect, given the weight loss throughout the storage period.

6.2 At the end of the storage, as expected, all the treatments decreased the percentage of fruits of category 3 and increased the 4 and 5, mainly the RDI treatments (TW-RDI and RW-RDI) in which the category 5 increased, 20% and 30%, respectively.

6.3 The combination of RW with RDI resulted in an increase of smaller fruit (category 5) at the end of the postharvest.

Future perspectives

It is intended to publish the results obtained, in the same crops and irrigation treatments of this Thesis, about:

- ✓ The hydraulic and chemical factors that regulate the stomatal closure (leaf hydraulic conductivity and abscisic acid);
- ✓ Correlations between the nitrogen use efficiency (net photosynthesis/nitrogen based on area) and $\delta^{15}\text{N}$ to long-term;
- ✓ The variations of the leaf chlorophyll content, according to vegetal canopy area (shaded/sunny);
- ✓ The effects of girdling practice in grapefruit trees;
- ✓ The structural and ontogenetic changes of the leaf to long term;
- ✓ The thermal response of the crop by the use of thermoradiometers and thermographic cameras.
- ✓ The water use efficiency (WUE) through techniques of determination of stable isotopes ^{13}C and ^{18}O in leaf tissue.
- ✓ Effects on quality during postharvest in mandarin fruits.

In addition, it is considered appropriate to carry out the following tests on new representative crops of the Mediterranean region (in pot and field) irrigated with reclaimed water treated with a new intelligent system, which combines sustainable technology in water treatment and water quality sensors, currently implemented in Bari, Italy, within the framework of the European DESERT project (Low-cost water DEsalination and SEnsor Technology compact module):

- ✓ Isotopic discrimination - ^{18}O , ^{13}C and ^{15}N - in plant, soil and water.
- ✓ Leaf hydraulic conductivity.
- ✓ Remote sensing: multispectral and thermal images captured with drones.

CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrológica, 2013. Principales patrones en cítricos: Características y tabla. [Acceso 05 Dic 2017]. Disponible en: <http://blog.agrologica.es/principales-patrones-portainjertos-en-citricos-naranja-limonero-mandarino-caracteristicas-tabla/>

Aguilar, N., Galindo, G., Fortanelli, J., Contreras, C., 2010. Índice normalizado de vegetación en caña de azúcar en la Huasteca Potosina. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 14 (2): 49-65. Universidad de Colima. Colima, México. https://www.researchgate.net/publication/292983301_Indice_normalizado_de_vegetacion_en_cana_de_azucar_en_la_Huasteca_Potosina.

Aksoy, U., Hepaksoy, S., Can, H.Z., Anac, S., Ul, M.A., Dorsan, F., Anac, D., Okur, B., Kilic, C., 1998. The effect of rootstock on leaf characteristics and physiological response of satsuma mandarins under saline conditions. *Acta Horticulturae*, 513: 169–176. doi.org/10.17660/ActaHortic.1998.513.19.

Alcobendas, R., 2014. Gestión de la calidad del fruto mediante prácticas culturales y aplicación de un modelo fisiológico en melocotonero. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena. Murcia. España.

Alcón, F., Egea, G., Nortes, P.A., 2012a. Financial feasibility of implementing regulated and sustained deficit irrigation in almond orchards. *Irrigation Science*, 31(5): 931-941. doi: 10.1007/s00271-012-0369-6.

Alcón, F., Martín-Ortega J., Berbel, J., de Miguel, M.D., 2012b. Environmental benefits of reclaimed water: an economic assessment in the context of the Water Framework Directive. *Water Policy*, 14(1): 148-159. doi: 10.2166/wp.2011.001.

Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D., Smith, M., 1998. Crop evapotranspiration. Paper 56. FAO. Roma (Italia). 300 p.

Allen, R.G., Pereira, L.S., 2009. Estimating crop coefficients from fraction of ground cover and height. *Irrigation Science*, 28(1): 17-34.

Almansa, M.S., Hernández, J.A., Jiménez, A., Botella, M.A., Sevilla, F., 2002. Effect of salt stress on the superoxide dismutase activity in leaves of *Citrus limonum* in different rootstockscion combinations. *Biologia Plantarum*, 45: 545-549.

Álvarez, S., Gómez-Bellot, M.J., Castillo, M., Banon, S., Sánchez-Blanco, M.J., 2012. Osmotic and saline effect on growth, water relations, and ion uptake and translocation in *Phlomis purpurea* plants. *Environmental and Experimental Botany*, 78: 138:145. doi: 10.1016/j.envexpbot.2011.12.035.

Al-Yassin, A., 2005. Review: Adverse effects of salinity on Citrus. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 7: 668-680.

Anderson, K., Gaston, K.J., 2013. Lightweight unmanned aerial vehicles will revolutionize spatial ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11(3): 138–146.

Arbona, A., López-Climent, M.F., Pérez-Clemente, R.M., Gómez-Cadenas, A., 2009. Maintenance of a high photosynthetic performance is linked to flooding tolerance in citrus. *Environmental and Experimental Botany*, 66:135-142.

Aslam M., Huffaker R.C., Rains W., 1984. Early effects of salinity on nitrate assimilation in barley seedlings. *Plant Physiology*, 76: 321-325.

Aucejo, A., Ferrer, J., Gabaldón, C., Marzal, P., Seco, A., 1997. Toxicity in citrus plantations in Villareal, Spain. *Water, Air, Soil and Pollution*, 94: 349–360.

Ballester, C., Castel, J., Intrigliolo, D.S., Castel, J.R., 2011. Response of Clementina de Nules citrus trees to summer deficit irrigation. Yield components and fruit composition. *Agricultural Water Management*, 98: 1027–1032.

Ballester, C., Castel, J., Intrigliolo, D.S., Castel, J.R., 2013. Response of Navel Lane Late citrus trees to regulated deficit irrigation: yield components and fruit composition. *Irrigation Science*, 31 (3): 333–341.

Baluja, J., Diago, M.P., Balda, P., Zorer, R., Meggio, F., Morales, F., Tardaguila, J., 2012. Assessment of vineyard water status variability by thermal and multispectral imagery using an unmanned aerial vehicle (UAV). *Irrigation Science*, 30(6): 511–522.

Banuls, J., Serna, M.D., Legaz, F., Talon, M., Primo-Millo, E., 1997. Growth and gas exchange parameters of Citrus plants stressed with different salts. *Journal of Plant Physiology*, 150(1-2): 194-199. doi: 10.1016/S0176-1617(97)80202-7.

Basiouny, F.M., 1984. The use of municipal treated effluent for peach tree irrigation. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 97: 345-347.

- Berni, J.A.J., Zarco-Tejada, P.J., Sepulcre-Cantó, G., Fereres, E., Villalobos, F., 2009a. Mapping canopy conductance and CWSI in olive orchards using high resolution thermal remote sensing imagery. *Remote Sensing Environment*, 113(11): 2380–2388.
- Berni, J.A.J., Zarco-Tejada, P.J., Suárez, L., Fereres, E., 2009b. Thermal and narrow band multispectral remote sensing for vegetation monitoring from an unmanned aerial vehicle. *IEEE Transaction on Geoscience Remote Sensing*, 47(3): 722–738. <http://dx.doi.org/10.1109/TGRS.2008.2010457>.
- BIO by Deloitte, 2015. Optimising water reuse in the EU, Final report – Part I, Prepared for the European Commission – DG ENV. In collaboration with ICF and Cranfield University. doi: 10.2779/603205.
- Bole, J.B., Bell, R.G., 1978. Land application of municipal sewage wastewater: Yield and chemical composition of forage crops. *Journal of Environmental Quality*, 7: 222–226.
- Bondada, B.R., Syvertsen, J.P., 2003. Leaf chlorophyll, net gas exchange and chloroplast ultrastructure in citrus leaves of different nitrogen status. *Tree Physiology*, 23(8): 553–559.
- Boman, B., 2000. Effect of saline irrigation water on citrus production. University of Florida, IFAS Indian River Research and Education Center, Ft. Pierce, FL.
- Boman, B., 2001. Effects of Saline Irrigation Water on Florida Citrus. Final Report. Special Publication SJ2001-SP12. University of Florida, IFAS Indian River Research Education Center, Ft. Pierce, FL.
- Bonilla, I., Martínez, F., Martínez-Casasnovas, J.A., 2015. Vine vigor, yield and grape quality assessment by airborne remote sensing over three years: analysis of unexpected relationships in cv. Tempranillo. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13(2): 8 pages. SSN: 2171–9292.e0903. <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2015132-7809>.
- Brumos, J., Colmenero-Flores, A., Conesa, P., Izquierdo, P., Sánchez, G., Iglesias, M.F., López-Climent, A., Gómez-Cadenas, A., Talón, M., 2009. Membrane transporters and carbon metabolism implicated in chloride homeostasis differentiate salt stress responses in tolerant and sensitive Citrus rootstocks. *Functional & Integrative Genomics*, 9:293–309.
- Burton, T.M., Hook, J.E., 1979. A mass balance study of application of municipal wastewater to forest in Michigan, *Journal of Environmental Quality*, 8: 589–596.

Camañes, G., Cerezo, M., Primo-Millo, E., Gojon, A., García-Agustín, P., 2009. Ammonium transport and CitAMT1 expression are regulated by N in Citrus plants. *Planta*, 229: 331-342.

Campbell, W.F., 1983. Alfalfa, sweet corn, and wheat responses to long-term application of municipal wastewater to cropland. *Journal of Environmental Quality*, 12: 234-249.

Candela, L., Fabregat, S., Josa, A., Suriol, J., Vigués, N., Mas, J., 2007. Assessment of soil and groundwater impacts by treated urban wastewater reuse. A case study: Application in a golf course (Girona, Spain). *Science of the Total Environment*, 374(1): 26-35. doi: 10.1016/j.scitotenv.2006.12.028.

Cánovas Ros, E., 2012. Influencia del riego deficitario controlado y agua regenerada en árboles jóvenes de pomelo. Tesis Fin de Máster. Universidad Politécnica de Cartagena. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial. Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC).

CARM, 2007. El Agua y la Agricultura en la Región de Murcia. Consejería de Economía y Hacienda. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia.

CARM, 2017. Estadística Agraria de Murcia 2015/16. Dirección General de Producciones y Mercados Agroalimentarios, Comunidad Autónoma de la Región de Murcia.

Carr, G., Potter, R. B., Nortcliff, S., 2011. Water reuse for irrigation in Jordan: Perceptions of water quality among farmers. *Agricultural Water Management*, 98(5): 847-854. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2010.12.011>.

Carter, G.A., Spiering, B.A., 2002. Optical properties of intact leaves for estimating chlorophyll concentration. *Journal Environmental Quality*, 31: 1424-1432.

Casierra-Posada, F., Ávila-León, O.F., Riascos-Ortíz, D.H., 2012. Diurnal changes in photosynthetic pigments content in sun and shade marigold leaves. *Temas Agrarios*, 17: 60–71.

Castel, J.R., Buj, A., 1990. Response of 'Salustiana' oranges to high frequency deficit irrigation. *Irrigation Science Journal*, 11: 121-127.

Castro, R., 1999. Información sobre Tierras Agrícolas y Aguas para un Desarrollo Agrícola Sostenible. Bases teóricas. Proyecto: GCP/RLA/126/JPN, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Roma.

CCAFS y FAO, 2014. Questions & Answers: Knowledge on Climate-Smart Agriculture. Consultative Group for International Agricultural Research (CGIAR) Research Program on Climate Change, Agriculture and Food Security. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Roma. <https://ccafs.cgiar.org/es/agricultura-sostenible-adaptada-al-clima#.WhWu9zdrzIV>.

Chalmers, D.J., Mitchell, P.D., Van Heek, L., 1981. Control of peach tree growth and productivity by regulated water supply, tree density and summer pruning. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 106: 307–312.

Chica, E.J., Albrigo, L.G., 2013. Expression of flower promoting genes in sweet orange during floral inductive water deficits. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 138(2): 88-94.

CE, 2016a. EU-level instruments on water reuse. Final report to support the Commission's Impact Assessment. Comisión Europea. ISBN 978-92-79-62616-6 doi: 10.2779/974903.

CE, 2016b. Inception Impact Assessment on the initiative "Minimum quality requirements for reused water in the EU (new EU legislation)". Comisión Europea. <http://ec.europa.eu/environment/water/reuse.htm>.

CE, 2017. Comprender las políticas de la Unión Europea en Agricultura. Una asociación entre Europa y los agricultores. Comisión Europea, Dirección General de Comunicación. Dirección General de Comunicación. Información al ciudadano. Comisión Europea. PDF ISBN 978-92-79-59595-0. doi: 10.2775/24724 NA-02-16-625-ES-N.

CEDEX, 2008. Realización de una base de datos sobre los sistemas de reutilización de aguas depuradas en España. Madrid. Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Gobierno de España.

Cerezo, M., García-Agustín, P., Serna, M.D., Primo-Millo, E., 1997. Kinetics of nitrate uptake by Citrus seedlings and inhibitory effects of salinity. *Plant Science*, 126: 105-112.

Cerezo, M., García-Agustín, P., Primo-Millo, E., 1999. Influence of Chloride and transpiration on net $^{15}\text{NO}_3^-$ uptake rate by Citrus roots. *Annals of Botany*, 84, 117-120.

Cerezo, M., Camañes, G., Flors V., Primo-Millo, E., García-Agustín P., 2007. Regulation of nitrate transport in Citrus Rootstocks depending on nitrogen availability. *Plant Signaling & Behavior* 2(5): 337-342.

Conejero, W., Mellisho, C.D., Ortuño, M.F., Moriana, A., Moreno, F., Torrecillas, A., 2011. Using trunk diameter sensor for regulated deficit irrigation scheduling in early maturing peach trees. *Environmental and Experimental Botany*, 71: 409-415.

Conesa, M.R., García-Salinas, M.D., de la Rosa, J.M., Fernández-Trujillo, J.P., Domingo, R., Pérez-Pastor, A., 2014. Effects of deficit irrigation applied during fruit growth period of late mandarin trees on harvest quality, cold storage and subsequent shelf-life. *Scientia Horticulturae*, 165: 344-351.

Contreras, S., Pérez-Cutillas, P., Santoni, C.S., Romero-Trigueros, C., Pedrero, F., Alarcón, J.J., 2014. Effects of reclaimed waters of spectral properties and leaf traits of citrus orchards. *Water Environment Research*, 86: 2242-2250.

Crisosto, C.H., Day, K.R., Johnson, R.S., Garner, D., 2000. Influence of in-season foliar calcium sprays on fruit quality and surface discoloration incidence of peaches and nectarines. *Journal American Pomological Society*, 54(3): 118-122

DAM. Depuración de aguas del Mediterráneo. <https://www.dam-aguas.es>

Daughtry, C., Walthall, C.L., Kim, M.S., Brown de Colstoun, E., McMurtrey, J.E., 2000. Estimating corn leaf chlorophyll concentration from leaf and canopy reflectance. *Remote Sensing Environment*, 74: 229-239.

Dawson, T.E., Mambelli, S., Plamboeck, A.H., Templer, P.H., Tu, K.P., 2002. Stable isotopes in plant ecology. *Annual Review Ecological System*, 33: 507-559.

Destain J.P., Fonder N., Xanthoulis D., Reuter V., 2010. Stable N-15 isotope and lysimeter, complementary tools in order to study the nitrogen leaching in agricultural soils. *Biotechnologie Agronomie Societe et Environment*, 14: 91-96.

- Díaz-Espejo, A., Nicolás, E., Fernández, J.E., 2007. Seasonal evolution of diffusional limitations and photosynthetic capacity in olive under drought. *Plant Cell and Environment*, 30: 922-933.
- Dobrowski, S.Z., Puschnik, J.C., Zarco-Tejada, P.J., Ustin, S.L., 2005. Simple reflectance indices track heat and water stress induced changes in steady state chlorophyll fluorescence. *Remote Sensing Environment*, 97(3): 403–414.
- EEA, 2015. La agricultura y el cambio climático. Agencia Europea de Medio Ambiente. Copenhagen, Dinamarca. <http://www.eea.europa.eu/es/senales/senales-2015/articulos/laagricultura-y-el-cambio-climatico>.
- Egea, G., González-Real, M.M., Baille, A., Nortes, P.A., Sánchez-Bel, P., Domingo, R., 2009. The effects of contrasted deficit irrigation strategies on the fruit growth and kernel quality of mature almond trees. *Agricultural Water Management*, 96: 1605-1614.
- Egea, G., González-Real, M.M., Baille, A., Nortes, P.A., Conesa, M., Ruiz-Salleres, I., 2012. Effects of water stress on irradiance acclimation of leaf traits in almond trees. *Tree Physiology*, 00: 1-14.
- Egea, G., Nortes, P.A., Domingo, R., Baille, A., Pérez-Pérez, A., González-Real, M.M., 2013. Almond agronomic response to long-term deficit irrigation applied since orchard establishment. *Irrigation Science*, 31: 445-454.
- Embleton, T.W., Jones, W.W., Labanauskas, C.K., Reuther, W., 1973. Leaf analysis as diagnostic tool and a guide to fertilization. In: *The citrus industry* (Reuther W, ed), Vol 2, 2nd ed., Univ. of Calif., Berkeley (USA). pp: 184-210 and Appendix I, pp: 447-495.
- ESAMUR. Entidad Regional de Saneamiento y Depuración de Aguas Residuales. www.esamur.com
- Evans, R.D., Bloom, A.J., Sukrapanna, S.S., Ehleringer, J.R., 1996. Nitrogen isotope composition of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. T-5) grown under ammonium or nitrate nutrition. *Plant Cell and Environment*, 19: 1317–1323.
- Evans, R.D., 2001. Physiological mechanisms influencing plant nitrogen isotope composition. *Plant Science*, 6(3): 121-126. Ç

Evans, J.R., Poorter, H., 2001. Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant Cell and Environment*, 24(8): 755-767.

FAO, 1999. Sistema para el Seguimiento y Análisis de Tierras mediante Teledetección (TeleSAT). Bases teóricas. Proyecto: GCP/RLA/126/JPN, FAO Información sobre Tierras Agrícolas y Aguas para un Desarrollo Agrícola Sostenible. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Roma.

FAO, 2002. El agua y la Agricultura. Cumbre Mundial de alimentación. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Roma. 10-13 junio.

FAO, 2011. The state of the world's land and water resources for food and agriculture. Managing systems at risk. ISBN 978-1-84971-326-9 (hdk) ISBN 978-1-84971-327-6 (pbk). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Rome. ISBN: 978-92-5-106614-0 (pbk).

FAO, 2016. The estate of food and agriculture in 2016. Climate Change. Agriculture and food security. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Roma. 196 pp. ISBN 978-92-5-109374-0. www.fao.org/3/a-i6030e.pdf

FAOSTAT, 2017. Data base. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Roma, Italia. [Acceso 30 Nov 2017]. Disponible en: <http://faostat3.fao.org/home/E>. y <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

Feigin, A., Vaisman, I., Bielora, H., 1984. Drip irrigation of cotton with treated municipal effluents: II Nutrient availability in soil. *Journal of Environmental Quality*, 13: 234-238.

FEPEX, 2010. Federación Española de Asociaciones de Productores y Exportadores de Frutas, Hortalizas, Flores y Plantas Vivas.

Fereres, E., Goldhamer, D.A., 1990. Deciduous fruit and nut trees. In: *Irrigation of agricultural crops* (Stewart BA & Nielsen DR, Eds.). American Society of Agronomy, Madison, WI, USA. Monograph 30, pp: 987-1017.

Flexas, J., Bota, J., Escalona, J.M., Sampol, B., Medrano, H., 2002. Effects of drought on photosynthesis and electron transport rate regulation in grapevine. *Plant Cell and Environment*, 22: 39-48.

Forner-Giner, M.A., Rodríguez-Gamir, J., Primo-Millo, E., Iglesias, D.J., 2011. Hydraulic and Chemical Responses of Citrus Seedlings to Drought and Osmotic Stress. *Journal of plant growth regulation*, 30(3): 353-366 doi: 10.1007/s00344-011-9197-9.

Gago, J., Martorell, S., Tomás, M., Pou, A., Millán, B., Ramón, J., Ruiz, M., Sánchez, R., Galmés, J., Conesa, M.A., Cuxart, J., Tardáguila, J., Ribas-Carbó, M., Flexas, J., Medrano, H., Escalona, J.M., 2013. High-resolution aerial thermal imagery for plant water status assessment in vineyards using a multicopter-RPAS. In: "VII Congreso Ibérico de Agroingeniería y Ciencias Hortícolas. Sociedades Españolas de Agroingeniería y de Ciencias Hortícolas, y las Sociedades Portuguesas de Horticultura y la Sección Especializada de Ingeniería Rural de la Sociedad de Ciencias Agrarias de Portugal.", Madrid, España. Poster.

Gago, J., Douthe, C., Coopman, R.E., Gallego, P.P., Ribas-Carbo, M., Flexas, J., Escalona, J., Medrano, H., 2015. UAVs challenge to assess water stress for sustainable agriculture. *Agricultural Water Management*, 153: 9-19.

García-Galiano, S.G., Olmos-Giménez, P., Giraldo-Osorio, J.D., 2015. Assessing Nonstationary Spatial Patterns of Extreme Droughts from Long-Term High-Resolution Observational Dataset on a Semiarid Basin (Spain). *Water* 7(10): 5458-5473. doi:10.3390/w7105458

García-Sánchez, F., Syvertsen, J.P., 2006. Salinity reduces growth, gas exchange, chlorophyll and nutrient concentrations in diploid sour orange and related allotetraploid somatic hybrids. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 77: 379-386.

García-Sánchez, F., Syvertsen, J.P., Gimeno, V., Botia, P., Perez-Perez, J.G., 2007. Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency. *Physiologia Plantarum*, 130(4): 532-542. doi: 10.1111/j.1399-3054.2007.00925.x

García-Tejero, I., Romero-Vicente, R., Jiménez-Bocanegra, J.A., Martínez-García, G., Durán-Zuazo, V.H., Muriel-Fernández, J.L., 2010. Response of citrus trees to deficit irrigation during different phenological periods in relation to yield, fruit quality, and water productivity. *Agricultural Water Management*, 97(5): 689–699.

Gelly, M., Recasens, I., Mata, M., Arbones, A., Rufat, J., Girona, J., Marsal, J., 2003. Effects of water deficit during stage II of peach fruit development and postharvest on

fruit quality and ethylene production. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 78(3): 324-330. doi: 10.1080/14620316.2003.11511626

Generalitat Valenciana, 2001. Patrones y variedades de cítricos. Apuntes para Cursos de Formación de Agricultores. Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación. Dirección general de innovación agraria y ganadería. Servicio de desarrollo tecnológico agrario. Depósito Legal: V-1324-2001.

Gimeno, V., Syvertsen, J.P., Nieves, M., Simón, I., Martínez, V., Garcia-Sanchez, F., 2009. Orange varieties as interstocks increase the salt tolerance of lemon trees. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84(6): 625-631. doi.org/10.1080/14620316.2009.11512577.

Gimeno, V., Simón, I., Nieves, M., Martínez, V., Cámara-Zapata, J.M., García, A.L., García-Sánchez, F., 2012. The physiological and nutritional responses to an excess of boron by Verna lemon trees that were grafted on four contrasting rootstocks. *Trees*, 26:1513-1526.

Girona, J., Mata, M., Arbones, A., Alegre, S., Rufat, J., Marsal, J., 2003. Peach tree response to single and combined regulated deficit irrigation regimes under shallow soils. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(3): 432-440.

Global Water Market, 2017. Meeting the world's water and wastewater needs until 2020. *Global Water Intelligence*, 18(5).

Goldhamer, D.A., Viveros, M., Salinas, M., 2006. Regulated deficit irrigation in almonds: effects of variation in applied water and stress timing on yield and yield components. *Irrigation Science*, 24: 101-114.

Gomes, M.M., Lagoa, A.M.M.A., Medina, C.L., Machado, E.C., Machado, M.A., 2004. Interactions between leaf water potential, stomatal conductance and abscisic acid content of orange trees submitted to drought stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 13(3): 155-161.

Gomez-Bellot, M.J., Álvarez, S., Banon, S., Ortuño, M.F., Sánchez-Blanco, M.J., 2013. Physiological mechanisms involved in the recovery of euonymus and laurustinus subjected to saline waters. *Agricultural Water Management*, 128: 131-139. doi: 10.1016/j.agwat.2013.06.017

González-Altozano, P., Castel, J.R., 1999. Regulated deficit irrigation in 'Clementina de Nules' citrus trees. I. Yield and fruit quality effects. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 74: 706-713.

González-Altozano, P., Castel, J.R., 2000. Effects of regulated deficit irrigation on 'Clementina de Nules' citrus trees growth, yield and fruit quality. *Acta Horticulturae*, 537(2): 749-758.

González-Dugo, V., Zarco-Tejada, P., Berni, J.A., Suárez, L., Goldhamer, D., Fereres, E., 2012. Almond tree canopy temperature reveals intra-crown variability that is water stress-dependent. *Agricultural and Forestal Meteorology*, 154:156–165.

González-Dugo, V., Zarco-Tejada, P., Nicolás, E., Nortes, P.A., Alarcón, J.J., Intrigliolo, D.S., Fereres, E., 2013. Using high resolution UAV thermal imagery to assess the variability in the water status of five fruit tree species within a commercial orchard. *Precision Agriculture*, 14(6): 660–678.

Gonzalez-Dugo, V., Hernandez, P., Solis, I., Zarco-Tejada, P.J., 2015. Using High-Resolution Hyperspectral and Thermal Airborne Imagery to Assess Physiological Condition in the Context of Wheat Phenotyping. *Remote Sensing*, 7: 13586-13605.

Google Map. <https://maps.google.com/>

Grattan, S., 2013. Evaluation of the impact of Boron on citrus orchards in Riverside country. Crop. Adopted by Riverside County Water Task Force, 78p. Crop Salinity Consulting.

Grattan, S.R., Díaz, F.J., Pedrero, F., Vivaldi, G.A., 2015. Assessing the suitability of saline wastewaters for irrigation of Citrus spp.: emphasis on boron and specific-ion interactions. *Agricultural Water Management*, 157: 48–58.

Haboudane, D., Miller, J.R., Pattey, E., Zarco-Tejada, P.J., Strachan, I., 2004. Hyperspectral vegetation indices and novel algorithms for predicting green LAI of crop canopies: modeling and validation in the context of precision agriculture. *Remote Sensing Environment*, 90(3): 337–352.

Han, S., Tang, N., Jian, H.X., Yand, L.T., Li, Y., Chen, L.S., 2009. CO₂ assimilation, photosystem II photochemistry, carbohydrate metabolism and antioxidant system of citrus

leaves in response to boron stress. *Plant Science*, 176(1): 143-153. doi: 10.1016/j.plantsci.2008.10.004

Hasek, R.F., 1986. Water conservation and recycling in ornamentals production. *Hortsciencie*, 21(1): 35-38.

Hernández López, S., 2016. La reutilización de las aguas en la demarcación hidrográfica del Segura: Instrumento para reducir el déficit hídrico. *Agua y Territorio*, 8: 8-9. ISSN 2340-8472, ISSNe 2340-7743. doi 10.17561/at.v0i8.3291

INE, 2008. Estadísticas e indicadores del agua: la información estadística, instrumento necesario para una mejor gestión del agua. Instituto Nacional de Estadística. DEPÓSITO LEGAL: M-17947-2001 ISSN: 1579-2277 www.ine.es NIPO: 605-08-006-6 Estadísticas.

Intrigliolo, D.S., Bonet, L, Nortes, P.A., Puerto, H., Nicolás, E., Bartual, J., 2013. Pomegranate tres performance under sustained and regulated déficit irrigation, *Irrigation Science*, 31: 959-970.

Jifon, J.L., Syvertsen, J.P., 2003. Moderate shade can increase net gas exchange and reduce photoinhibition in citrus leaves. *Tree Physiology*, 23: 119-127.

Jones, H.G., Vaughan, R.A., 2010. Remote Sensing of Vegetation: Principles, Techniques and Applications. Oxford University Press Inc., New York.

Kalavrouziotis, I.K., Kanatas, P.I., Papadopoulos, H., Bladenopoulou, S., Koukoulakis, P.H., Leotsinides, M.N., 2005. Effects of municipal reclaimed wastewater on the macro and microelements status of soil and plants. *Fresenius Environmental Bulletin*, 14(11): 1050-1057.

Kalavrouziotis, I.K., Robolas, P., Koukoulakis, P.H., Papadopoulos, A.H., 2008. Effects of municipal reclaimed wastewater on the macro- and micro elements status of soil and of *Brassica oleracea* var. *Italica*, and *B. oleracea* var. *Gemmifera*. *Agricultural Water Management*, 95: 419-426.

Khelil M.N., Rejeb S., Henchi. B., Destain J.P., 2013a. Effect of fertilizer rate and water irrigation quality on the recovery of 15N-labeled fertilizer applied to Sudangrass. *Agronomy Sustainable Development*, 25: 137-143.

Khelil M.N., Rejeb S., Henchi. B., Destain J.P., 2013b. Effects of irrigation water quality and nitrogen rate on the recovery of $\delta^{15}\text{N}$ fertilizer by sorghum in field study. *Soils Science and Plant Analysis*, 44: 2647-2655.

Koach, K., Mengel, K., 1975. Effect of salinity and potassium on the uptake of nitrogen and on nitrogen metabolism in young barley plant. *Physiology Plant*, 35: 310-313.

Kriszan M., Amelung W. Schellberg J., Gebbing T., Kuhbauch W., 2009. Long-term changes of the delta N-15 natural abundance of plants and soil in a temperate grassland. *Plant and Soil*, 325: 157-169.

Kronzucker, H., Siddiqi, M., Glass, A.D.M., 1995. Kinetics of NO_3^- influx in spruce. *Plant Physiology*, 109: 1426-1432.

La Cerca, diario digital. Castilla la Mancha. España. [Acceso 30 Nov 2017]. Disponible en: www.lacerca.com

Labanauskas, C.K., Bitters, W.P., 1974. The Influence of rootstocks and interstocks on nutrient concentration in Valencia oranges leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 99(1): 32-33.

Lampinen, B.D., Shackel, K.A., Southwick, S.M., Olson, B., Yeager, J.T., Goldhamer, D., 1995. Sensitivity of yield and fruit quality of French prune to water-deprivation at different fruit growth stages. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 120 (2): 139-147.

Langgut, D., 2017. The Citrus Route Revealed: From Southeast Asia into the Mediterranean. *Hortiscience*, 52(6): 814-822. doi: 10.21273/HORTSCI11023-16

Lapeña, L., Escorín, V., Cerezo, M., Flors, V., García, P., 2002. Riego con agua residual urbana depurada en la Plana de Castellón: Un estudio de diez años. Dpto. Ciencias Experimentales ESTCE. Área de Fisiología Vegetal. Universidad Jaume I de Castellón. España.

Laribi, A.I., Palou, L., Intrigliolo, D.S., Nortes, P.A., Rojas-Argudo., C., Taberner, V., Bartual, J., Pérez-Gago, M.B., 2013. Effect of sustained and regulated deficit irrigation on fruit quality of pomegranate cv. "Mollar Elche" at harvest and during cold storage. *Agricultural Water Management*, 125: 61-70.

Laslo, E., Gyorgy, E., Mara, G., Szentes, S., Salomon, R.V., Andras, C.D., Lanyi, S., 2012. The management of N and P nutrition of plants using nitrogen and phosphorus solubilizing bacteria. *Environmental Engineering and Management Journal*, 11(2): 371-375.

Lavrnić, S., Zapater-Pereyra, M., Mancini, M.L., 2017. Water Scarcity and Wastewater Reuse Standards in Southern Europe: Focus on Agriculture. *Water Air and Soil Pollution*, 228(7). Número de artículo: 251. doi: 10.1007/s11270-017-3425-2

Lelong, C.C., Burger, P., Jubelin, G., Roux, B., Labbé, S., Baret, F., 2008. Assessment of unmanned aerial vehicles imagery for quantitative monitoring of wheat crop in small plots. *Sensor*, 8(5): 3557-3585. <http://dx.doi.org/10.3390/s8053557>.

Levy, Y., Syvertsen, J.P., 2004. Irrigation water quality and salinity effects in citrus trees. *Horticultural Review*, 30: 37-82.

Levy, Y., Bar-Akiva, A., Vaadia, Y., 1978. Influence of irrigation and environmental factors on grapefruit acidity. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 103: 73-76.

Levy, Y., Shalhevet, J., Bielorai, H., 1979. Effect of irrigation regime and water salinity on grapefruit quality. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 104: 356-359.

Licor, Instruments. Nebraska, Estados Unidos. [Acceso 30 Nov 2017]. Disponible en: <https://www.licor.com/env/products/photosynthesis/>

López-Cuquejo, A., 2001. Reutilización de aguas depuradas en la provincia de Almería: el caso del aprovechamiento para regadío agrícola en el Bajo Andarax. *Nimbus*, 7(8): 123-134.

Lloyd, J., Syvertsen, J.P., Kriedemann, P.E., 1987. Salinity effects on leaf water relations and gas exchange of 'Valencia' orange, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, on rootstocks with different salt exclusion characteristics. *Australian Journal of Plant Physiology*, 14: 605-617.

Maas, E.V., 1993. Salinity and citriculture. *Tree Physiology*, 12(2): 195-216.

Maas, E.V., Grattan, S.R., 1999. Crop yields as affected by salinity. In R.W. Skaggs and J. van Schilfgaarde (eds) *Agricultural Drainage*. Agronomy Monograph 38. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI pp. 55-108.

Maestre-Valero, J.F, Alarcón, J.J., Nicolás, E., Martínez-Álvarez, V., 2016. Economic feasibility of implementing regulated deficit irrigation with reclaimed water in a grapefruit orchard. *Agricultural Water Management*, 178: 119-125. doi: 10.1016/j.agwat.2016.09.019

Magalhães Filho, J.R., Machado, E.C., Machado, D.F.S.P., Ramos, R.A., Ribeiro, R.V., 2009. Root temperature variation and photosynthesis of 'Valencia' sweet orange nursery trees. *Pequisa Agropecuaria Brasileira*, 44(9): 1118-1126 doi: 10.1590/S0100-204X2009000900008

MAGRAMA, 2016. Encuesta Sobre Superficies y Rendimientos de Cultivos. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA). Gobierno de España. <http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/esyrce/>.

MAGRAMA, 2017. Boletín Mensual de Estadística. Marzo 2017. Secretaría General Técnica, Subdirección General de Estadística. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA). Gobierno de España.

MAPAMA. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Gobierno de España. [Acceso 30 Nov 2017]. Disponible en: <http://www.mapama.gob.es/app/MaterialVegetal/fichaMaterialVegetal.aspxidFicha=5>

MAPAMA, 2011. Las variedades de Cítricos. El material vegetal y el registro de variedades comerciales de España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y marino (MAPAMA). Gobierno de España. NIPO: 770-11-178-6 ISBN: 978-84-491-1153-2
http://www.mapama.gob.es/es/ministerio/servicios/publicaciones/Variedades_de_Citricos_primeras_p%C3%A1ginas_tcm7-212147.pdf

MAPAMA, 2016. La reutilización del agua depurada en el PHDS 2015/21 (C.H.S.). III Jornadas de agua y sostenibilidad. La reutilización de aguas en España y Europa,

pasado, presente y futuro. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA). Gobierno de España.

MAPAMA, 2017. Estado de la sequía hidrológica a 28 de febrero de 2017. Secretaría de estado de Medio Ambiente. Dirección general de agua. Subdirección general de planificación y uso sostenible del agua. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA).
http://www.mapama.gob.es/es/ministerio/servicios/publicaciones/rev_numero.asp?codrevista=SSR

Marañón-Jiménez S., Castro J., Querejeta J.I., Fernández-Ondoño, E., Allen C.D., 2013. Post-fire wood management alters water stress, growth, and performance of pine regeneration in a Mediterranean ecosystem. *Forest Ecology and Management*, 306: 231-239.

Marsal, J., Johnson, S., Casadesus, J., López, G., Stöckle, C., 2014. Fraction of canopy intercepted radiation relates differently with crop coefficients depending on the season and the fruit tree species. *Agricultural and Forest Meteorology*, 184: 1-11.

Maurer, M.A., Davies, F.S., 1993. Microsprinkler irrigation of young redblush grapefruit trees using reclaimed water. *Hortscience*, 28(12) : 1157-1161.

Maurer, M.A., Davies, F.S. y Graetz, D.A., 1995. Reclaimed wastewater irrigation and fertilization of mature 'Redblush' grapefruit trees on spodosols in Florida. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 120: 394-402.

Melgar, J.C., 2008. Leaf gas exchange, water relations, nutrient content and growth in citrus and olive seedlings under salinity. *Biology Plant*, 52:385-390.

Melgar, J.C., Mohamed, Y., Serrano, N., García-Galavis, P.A., Navarro, C., Parra, M.A., Benlloch, M., Fernández-Escobar, R., 2009. Long term responses of olive trees to salinity. *Agricultural Water Management*, 96: 1105-1113.

Melgarejo-Moreno, J. y López-Ortiz, M.I., 2016. Reuse in Spain. *Agua y Territorio*, 8: 8-9. Universidad de Jaén, Jaén, España. ISSN 2340-8472, ISSNe 2340-7743. doi 10.17561/at.v0i8.3291

Meli, S., Porto, M., Belligno, A., Bufo, S., Mazzatura, A. y Scopa, A., 2002. Influence of irrigation with lagooned urban wastewater on chemical and microbiological soil

parameters in a citrus orchard under Mediterranean condition. *Science of the Total Environment*, 285: 69–77.

Melián-Navarro, A., Fernández-Zamudio, M.A., 2016. Water Reuse in Agriculture and the Environment M.A. *Agua y Territorio*, 8: 8-9. Universidad de Jaén, Jaén, España. ISSN 2340-8472, ISSNe 2340-7743. doi 10.17561/at.v0i8.3291

Michener, R., Lajtha, K., 2007. *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*. Second Edition. Print ISBN: 9781405126809, Online ISBN: 9780470691854, doi: 10.1002/9780470691854

Mirás-Ávalos, J.M., Egea, G., Nicolás, E., 2011. QualiTree, a virtual fruit tree to study the management of fruit quality. II. Parameterization for peach, analysis of growth-related processes and agronomic scenarios. *Trees Structure and Function*, 25: 785-799.

Mirás-Avalos, J.M., Pérez-Sarmiento, F., Alcobendas, R., Alarcón, J.J., Mounzer, O., Nicolás, E., 2016. Using midday stem water potential for scheduling deficit irrigation in mid-late maturing peach trees under Mediterranean conditions. *Irrigation Science*, 34:161–173. doi 10.1007/s00271-016-0493-9.

Montoliu, A., López-Climent, M.F., Arbona, V., Pérez-Clemente, R.M., Gómez-Cadenas, A., 2009. A novel in vitro tissue culture approach to study salt stress responses in citrus. *Plant Growth Regulation*, 59: 179-187.

Montesinos, A., 2004. Estudio de la depuración del agua en España y en la Región de Murcia. Proyecto fin de carrera, Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, Murcia. España. PM Cid: PMC1615751

Morgan, K.T., Wheaton, A., Parsons, L.R. y Castle, W.S., 2008. Effects of Reclaimed Municipal Waste Water on Horticultural Characteristics, Fruit Quality, and Soil and Leaf Mineral Concentration of Citrus. *HortScience*, 43: 459–464.

Morgan, K.T., Wheaton, T.A., Parsons, L.R., Castle, W.S., 2011

Morugán-Coronado, A., 2011. Efectos de la aplicación de aguas residuales depuradas sobre suelo agrícola. Tesis Doctoral, Universidad Miguel Hernández, Elche, Alicante. España.

- Mouhaya, W., Allario, T., Brumos, J., Andres, F., Froelicher, Y., Luro, L., 2010. Sensitivity to high salinity in tetraploid citrus seedlings increases with water availability and correlates with expression of candidate genes. *Functional Plant Biology*, 37: 674-685.
- Mounzer, O., Pedrero, F., Nortes, P.A., Bayona, J.M., Nicolás, E. y Alarcón, J.J., 2013. Transient soil salinity under the combined effect of reclaimed water and regulated deficit drip irrigation of Mandarin trees. *Agricultural Water Management*, 120: 23–29.
- Murkute, A.A., Sharma, S., Sing, S.K., 2005. Citrus in terms of soil and water salinity: a review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 64: 393-402.
- Navarro, J.M., Pérez-Pérez, J.G., Romero, P., Botía, P., 2010. Analysis of the changes in quality in mandarin fruit, produced by deficit irrigation treatments. *Food Chemistry*, 119: 1591-1596.
- Navarro, J.M., García-Olmos, B., Andujar, S., Rodríguez-Morán, M., Moreno, M., Porras, I., 2011. Effects of calcium on growth and nutritional state of Citrus seedlings under NaCl stress. *Acta Horticulture*, 922, ISHS.
- Navarro Caballero, T.M., 2010. Reutilización de aguas regeneradas. Aspectos tecnológicos y jurídicos. Murcia, Fundación Instituto Euromediterráneo del Agua.
- Neilsen, G.H., Stevenson, D.S., Fitzpatrick, J.J. y Brownlee, C.H., 1989a. Nutrition and yield of young apple trees irrigated with municipal waste water. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 114: 377-383.
- Neilsen, G.H., Stevenson, D.S. y Fitzpatrick, J.J., 1989b. The effect of municipal wastewater irrigation and rate of N fertilization on petiole composition, yield, and quality of Okanlal Riesling grapes. *Canadian Journal of Plant Science*, 69:1285-1294.
- Nicolás, E., Pedrero, F., Alarcón, J. J., Mounzer, O., Martínez, V., Nortes, P. A., Alcón, F. J., Egea, G. y De Miguel. M. D., 2011. Estudio de la viabilidad de uso de las aguas regeneradas procedentes de la EDAR de Jumilla en la Comunidad de Regantes Miraflores. Murcia, Consejería de Agricultura y Agua Región de Murcia.
- Nicolás, E., Alarcón, J.J., Mounzer, O., Pedrero, F., Nortes, P.A., Alcobendas, R., Romero-Trigueros C., Bayona, J.M. y Maestre-Valero, J.F., 2016. Long-term physiological and

agronomic responses of mandarin trees to irrigation with saline reclaimed water. *Agricultural Water Management*, 166: 1-8. (Corrigendum 169:193).

Ollinger, S.V., 2011. Sources of variability in canopy reflectance and the convergent properties of plants. *New Phytologist*, 189:375–394.

ONU, 2015. *World Population Prospects: The 2015 Revision, Key Findings and Advance Tables*. Department of Economic and Social Affairs/Population Division 1, United Nations Organization (ONU).

ONU, 2017. *World Population Prospects. The 2017 Revision Key Findings and Advance Tables*. Department of Economic and Social Affairs, Population Division. United Nations Organization (ONU). Working Paper No. ESA/P/WP/248.

Papadakis, I.E., Dimassi, K.N., Bosabalidis, A.M., Therios, I.N., Patakas, A., Giannakoula, A., 2004a. Boron toxicity in 'Clementine' mandarin plants grafted on two rootstocks. *Plant Science*, 166: 539-547.

Papadakis, I.E., Dimassi, K.N., Bosabalidis, A.M., Therios, I.N., Giannakoula, A., 2004b. Effects of B excess on some physiological and anatomical parameters of 'Navilena' orange plants grafted on two rootstocks. *Environmental and Experimental Botany*, 51: 247-257.

Paranychanakis, N.V., Aggelides, S., Angelakis, A.N., 2004. Influence of rootstock, irrigation level and recycled water on growth and yield of Soultamina grapevines. *Agricultural Water Management*, 69: 13-27.

Parsons, L.R., Wheaton, T.A., Castle, W.S., 2001. High Application Rates of Reclaimed Water Benefit Citrus Tree Growth and Fruit Production. *Hortscience* 36(7): 1273–1277.

Pedrero, F. y Alarcón, J.J., 2009. Effects of treated wastewater irrigation on lemon trees. *Desalination*, 246: 631-639.

Pedrero, F., J.J. Alarcón, A.J. García, P.A. Nortes, M. Abellán, 2014. Agricultural wastewater use to Intelligent Reclaim Irrigation System (IRIS) in the Region of Murcia. Oral communication. IWA Regional Symposium on Water, Wastewater and Environment: Traditions and Culture. Patras, Grecia (22-23 March, 2014).

Pedrero, F., Albuquerque, A., Marecos Do Monte, H., Cavaleiro, V., Alarcón, J.J., 2011. Potencial use of reclaimed wastewater with GIS-based multi-criteria analysis in Portugal. *Resources, Conservation and Recycling*, 56: 105-116.

Pedrero, F., Mounzer, O., Alarcón, J.J., Bayona, J.M., Nicolás, E., 2013. The viability of irrigating mandarin trees with saline reclaimed water in a semi-arid Mediterranean region: a preliminary assessment. *Irrigation Science*, 31: 759-768.

Pedrero, F., Maestre, J.F., Mounzer, O., Alarcón, J.J., Nicolás, E., 2014. Physiological and agronomic mandarin trees performance under saline reclaimed water combined with regulated deficit irrigation. *Agricultural Water Management*, 146: 228-237.

Pedrero, F., Maestre-Valero, J.F., Mounzer, O., Nortes, P.A., Alcobendas, R., Romero-Trigueros, C., Bayona, J.M., Alarcón, J.J. y Nicolás, E., 2015. Response of Young 'Star Ruby' grapefruit trees to regulated deficit irrigation with saline reclaimed water. *Agricultural Water Management*, 158: 51-60.

Peel, M.C., Finlayson, B.L., McMahon, T.A., 2007. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrology and Earth Systems Science*, 11: 1633–1644.

Pereira, B.F.F., He, Z.L., Stoffella, P.J. y Melfi, A.J., 2011. Reclaimed wastewater: Effects on citrus nutrition. *Agricultural Water Management*, 98: 1828-1833.

Pereira, L.S., 2017. Water, Agriculture and Food: Challenges and Issues. *Water Resources Management*, 31(10): 2985–2999.

Pérez-Pérez, J.G., Romero, P., Navarro, J.M., Botía, P., 2008a. Response of sweet orange cv 'Lane late' to deficit-irrigation strategy in two rootstocks. II. Flowering, fruit growth, yield and fruit quality. *Irrigation Science*, 26(6): 834–839.

Pérez-Pérez, J.G., Romero, P., Navarro, J.M., Botía, P., 2008b. Response of sweet orange cv 'Lane late' to deficit irrigation in two rootstocks. I: Water relations, leaf gas exchange and vegetative growth. *Irrigation Science*, 26(5): 415–425.

Pérez-Pérez, J.G., Robles, J.M., Botía, P., 2014. Effects of deficit irrigation in different fruit growth stages on 'Star Ruby' grapefruit trees in semi-arid conditions. *Agricultural Water Management*, 133: 44–54.

- Pérez-Pérez, J.G., García-Sánchez, F., Robles, J.M., Botía, P., 2015. 'Star Ruby' grapefruit and 'Clemenules' mandarin trees show different physiological and agronomic responses to irrigation with saline water. *Irrigation Science*, 33(3): 191-204. <http://dx.doi.org/10.1007/s00271-014-0459-8>.
- Pérez-Sarmiento, F., Mirás-Avalos, J.M., Alcobendas, R., Alarcón, J.J., Mounzer, O., Nicolás, E., 2016. Effects of regulated deficit irrigation on physiology, yield and fruit quality in apricot trees under Mediterranean conditions. *Spanish Journal of Agricultural Research* 14(4): 1205-1217. <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2016144-9943>.
- Pôcas, I., Rodrigues, A., Gonçalves, S., Costa, P.M., Gonçalves, I., Pereira, L.S., Cunha, M., 2015. Predicting grapevine water status based on hyperspectral reflectance vegetation indices. *Remote Sensing*, 7: 16460–16479, <http://dx.doi.org/10.3390/rs71215835>.
- Prats-Rico, D., 2016. Reuse of Purified Regenerated Water Worldwide: Analyzes and Projections. *Agua y Territorio*, 8: 8-9. Universidad de Jaén, Jaén, España. ISSN 2340-8472, ISSNe 2340-7743. doi 10.17561/at.v0i8.3291
- Prior, L.D., Grieve, A.M., Bevington, K.B., Slavich, P.G., 2007. Long-term effects of saline irrigation water on Valencia orange trees: Relationships between growth and yield, and salt levels in soil and leaves. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58(4): 349-358.
- Querejeta, J.I., Barberá, G.G., Granados, A., Castillo, V.M., 2008. Afforestation method affects the isotopic composition of planted *Pinus halepensis* in a semiarid region of Spain. *Forest Ecology and Management*, 254: 56-64.
- Ramos, C., 1996. El riego con aguas residuales. Aprovechamiento del agua depurada en la Comunidad Valenciana. *Sanejament d'Aigües-Generalitat Valenciana*. pp. 49-63.
- Ravindran, K.C., Venkatesa, K., Balakrishnan, V., Chellappan, K.P., Balasubramanian, T., 2007. Restoration of saline land by halophytes for Indian soils. *Soil Biology Biochemistry*, 39: 2661-2664.
- Renboll, V., Cerezo, M., Roig, A., Flors, V., Lapeña, V. y García-Agustín, P., 2000. Influence of wastewater vs groundwater on young Citrus trees. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 1441-1446.
- Robinson D., Handley L.L., Scrimgeour C.M., Gordon D.C., Forster B.P., Ellis R.P., 2000. Using stable isotope natural abundances ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) to integrate the stress

responses of wild barley (*Hordeum spontaneum* C.Koch.) genotypes. *Journal of Experimental Botany*, 51: 41-55.

Robinson, D., 2001. $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle, *Ecology & Evolution*, 16(3): 153-162.

Robles, J.M., Botia, P., Pérez-Pérez, J.G., 2017. Sour orange rootstock increases water productivity in deficit irrigated 'Verna' lemon trees compared with *Citrus macrophylla*. *Agricultural Water Management*, 186: 98-107. doi: 10.1016/j.agwat.2017.03.002

Rodriguez-Pérez, J.R., Riaño, D., Carlisle, E., Ustin, S., Smart, D.R., 2007. Evaluation of hyperspectral reflectance indexes to detect grapevine water status in vineyards. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58: 302–317.

Romero, P., Navarro, J.M., Pérez-Pérez, J.G., García-Sánchez, F., Gómez-Gómez, A.G., Porras, I., Martínez, V., Botía, P., 2006. Deficit irrigation and rootstock: their effects on water relations, vegetative development, yield, fruit quality and mineral nutrition of *Clemenules mandarin*. *Tree Physiology*, 26: 1537-1548.

Romero-Trigueros, C., Nortes Tortosa, P.A., Pedrero Salcedo, F., Mounzer, O., Alarcón Cabañero, J.J., Bayona Gambín, J.M., Nicolás Nicolás, E., 2014a. Assessment of the viability of using saline reclaimed water in grapefruit in medium to long term. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 12(4): 1137-1148. doi: 10.5424/sjar/2014124-5495

Romero-Trigueros, C., Nortes, P.A., Alarcón, J.J. y Nicolás, E., 2014b. Determination of ^{15}N stable isotope natural abundances for assessing the use of saline reclaimed water in grapefruit. *Environmental Engineering and Management Journal*, 13(10): 2525-2530.

Sato, T., Qadir, M., Yamamoto, S., Endo, T. y Zahoor, A., 2013. Global, regional, and country level need for data on wastewater generation, treatment, and use. *Agricultural Water Management*, 130: 1-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2013.08.007>

Sensefly. Lausana, Suiza. [Acesso 30 Nov 2017]. Disponible en: <https://www.sensefly.com/drones/ebec.html>

Siddiqi, M.Y., Glass, A.D.M., Ruth, T.J., Rufty, T.W., 1990. Studies of the uptake of nitrate in barley. I: Kinetics of NO_3^- influx in spruce. *Plant Physiology*, 93: 1426-1432.

Sims, D.A., Gamon, J.A., 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species: leaf structures and developmental stages. *Remote Sensing Environment*, 81: 337–354.

Sonen Capital, 2016. Water Investment Primer, Sonen Capital. San Francisco, California. USA. <http://www.sonencapital.com/wp2015/wp-content/uploads/2016/06/16WIP.pdf>

Stable Isotope Facility, Universidad de California, Davis, Estados Unidos. [Acceso 30 Nov 2017]. Disponible en: <http://stableisotopefacility.ucdavis.edu/gallery.html>

Stagakis, S., González-Dugo, V., Cid, P., Guillén-Climent, M.L., Zarco-Tejada, P.J., 2012. Monitoring water stress and fruit quality in an orange orchard under regulated deficit irrigation using narrow-band structural and physiological remote sensing indices. *Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 71: 47–61.

Syvertsen, J., Levy, Y., 2005. Salinity interactions with other abiotic and biotic stresses in citrus. *Horttechnology*, 15(1): 100-103.

Syvertsen, J.P., Melgar, J.C., 2010. Salinity tolerance and leaf water use efficiency in citrus. *J Amer Soc Hort Sci* 135(1): 33-39.

Treeby, M.T., Henriod, R.E., Bevington, K.B., Milne, D.J., Storey, R., 2007. Irrigation management and rootstock effects on navel orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] fruit quality. *Agricultural Water Management*, 91:24–32.

Torres, J., Valera, D., Belmonte, L.J., Herrero-Sánchez, C., 2016. Economic and Social Sustainability through Organic Agriculture: Study of the Restructuring of the Citrus Sector in the "Bajo Andarax" District (Spain). *Sustainability*, 8(9). Número de artículo: 918. doi: 10.3390/su8090918.

UNESCO, 2008. World Water Assessment Programme (WWAP). World Water Development (WD) Report (WWDR3), Water in a Changing World. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO).

UNESCO, 2017. Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos (WWAP) Hechos y cifras. Hecho 1: La demografía y el consumo son los principales responsables de la presión ejercida sobre los recursos hídricos. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO). <http://www.unesco.org/new/es/natural->

sciences/environment/water/wwap/facts-and-figures/all-facts-wwdr3/fact1-demographics-consumption/)

USDA, 2017. EU-28 Citrus Semi-annual 2017. Global Agricultural Information Network (GAIN). United States Department of Agriculture (USDA) and Foreign Agricultural Service.

Vélez, J.E., Álvarez-Herrera, J.G. y Alvarado-Sanabria, O.H., 2012. El Estrés Hídrico en Cítricos. Orinoquia, 16 (2): 32-39.

Vera, J., Abrisqueta, I., Abrisqueta, J.M., Ruíz-Sánchez, M.C., 2013. Effect of deficit irrigation in early-maturing peach tree performance. Irrigation Science, 31: 747-757.

Villalobos, F.J., Testi, L., Moreno-Perez, M.F., 2008. Evaporation and canopy conductance of citrus orchard. Agricultural Water Management, 96(4): 565–573.

Wikimapia. [Acceso 30 Nov 2017]. Disponible en: <http://wikimapia.org/33381174/es/EDAR-de-Molina-Norte>

World Water Assessment Programme, 2009. The United Nations world water development. Report 3: Water in a changing world. Paris: United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO), and London: Earthscan. Map 2.1, pp. 30.

Wu, C., Niu, Z., Tang, Q., Huang, W., 2008. Estimating chlorophyll content from hyperspectral vegetation indices: Modeling and validation. Agricultural and Forest Meteorology, 148: 1230-1241.

WWAP, 2012. The United Nations World Water Development. Report 4: Managing Water under. Uncertainty and Risk. World Water Assessment Programme (WWAP). United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO).

Zarco-Tejada, P.J., González-Dugo, V., Berni, J.A., 2012. Fluorescence, temperature and narrow-band indices acquired from a UAV platform for water stress detection using a micro-hyperspectral imager and a thermal camera. Remote Sensing Environment, 117: 322-337.

Zarco-Tejada, P.J., Guillén-Climent, M.L., Hernández-Clemente, R., Catalina, A., González, M.R., Martín, P., 2013a. Estimating leaf carotenoid content in vine-yards using

high resolution hyperspectral imagery acquired from an unmanned aerial vehicle (UAV). *Agricultural and Forest Meteorology*, 171: 281-294.

Zarco-Tejada, P.J., González-Dugo, V., Williams, L.E., Suárez, L., Berni, J.A.J., Goldhamer, D., Fereres, E., 2013b. A PRI-based water stress index combining structural and chlorophyll effects: assessment using diurnal narrow-band air-borne imagery and the CWSI thermal index. *Remote Sensing Environment*, 138, 38-50.

Zekri, M. y Koo, R.C.J., 1993. A reclaimed water citrus irrigation project. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 106: 30–35.

Zekri, M. y Koo, R.C.J., 1994. Treated municipal wastewater for citrus irrigation. *Journal of Plant Physiology*, 17: 693–708.

ANEXO I

ANEXO I**ÍNDICE DE IMPACTO DE LAS PUBLICACIONES**

(Fuente: ISI Web of Knowledge. JRC Science Edition)

Publicación 1

Cristina Romero Trigueros; Pedro Antonio Nortes Tortosa; Francisco Pedrero Salcedo; Oussama Mounzer; Juan José Alarcón Cabañero; Jose María Bayona Gambín; Emilio Nicolás Nicolás. Assessment of the viability of using saline reclaimed water in grapefruit in medium to long term. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2014, 12-4, pp. 1137-1148. DOI: 10.5424/sjar/2014124-5495

Factor de impacto de la revista: 0.703

(Q2; 26/56 Agriculture)

Publicación 2

Cristina Romero Trigueros; Pedro Antonio Nortes Tortosa; Juan José Alarcón Cabañero; Johannes E. Hunink; Margarita Parra; Sergio Contreras; Peter Droogers; Emilio Nicolás Nicolás. Effects of saline reclaimed waters and deficit irrigation on Citrus physiology assessed by UAV remote sensing. *Agricultural Water Management*, 2017, 183-31, pp. 60-69. DOI: 10.1016/j.agwat.2016.09.014

Factor de impacto de la revista: 2.848

(Q1; 13/83 Agronomy)

Publicación 3

Cristina Romero Trigueros; Pedro Antonio Nortes Tortosa; Juan José Alarcón Cabañero; Emilio Nicolás Nicolás. Determination of ¹⁵N stable isotope natural abundances for assessing the use of saline reclaimed water in grapefruit. *Environmental Engineering and Management Journal*, 2014, 13-10, pp. 2525-2530.

Factor de impacto de la revista: 1.065

(Q3; 160/223 Environmental Science)

Publicación 4

Cristina Romero Trigueros; Pedro Antonio Nortes Tortosa; Margarita Parra; Jose María Bayona Gambín; Juan José Alarcón Cabañero; Emilio Nicolás Nicolás. Effect of deficit irrigation and reclaimed water on yield and quality of grapefruits at harvest and postharvest. *LWT - Food Science and Technology*, 2017, 18-B, pp. 405-411. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.05.001

Factor de impacto de la revista: 2.329

(Q1; 32/130 Food Science and Technology)

ANEXO II

ANEXO II

NOMENCLATURA

➤ Acrónimos

ANOVA: Análisis de la varianza (ANalysis Of VAriance)

AR: Agua Regenerada

AT: Agua del Traslase

BOE: Boletín Oficial del Estado

C: Control

CARM: Comunidad Autónoma de la Región de Murcia

CE: Conductividad eléctrica ($\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$)

CEDEX: Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas

CF-IRMS: Espectrometría de Masas de Relaciones Isotópicas de Flujo Continuo
(Continuous Flow Isotope-Ratio Mass Spectrometry)

DDA: Día Del Año

DV: Dosel vegetal (m^3)

EDAR: Estación Depuradora de Aguas Residuales

EEA: Agencia Europea de Medioambiente (Environmental European Agency)

ESAMUR: Entidad Regional de Saneamiento y Depuración de Aguas Residuales

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization of the United Nations)

FAOSTAT: Base de datos estadísticos de alimentación y agricultura de la ONU

FEPEX: Federación Española de Asociaciones de Productores Exportadores de Frutas, Hortalizas, Flores y Plantas vivas

FG: Etapa fenológica de crecimiento del fruto (Fruit Growth)

GAIN: Red mundial de información agrícola (Global Agricultural Information Network)

USDA: Departamento de agricultura de USA (United Stated Department of Agriculture)

FAS: Servicio extranjero de agricultura (Foreign Agricultural Service)

GMT: Tiempo medio de Greenwich (Greenwich Mean Time)

HSD: Diferencia significativa honesta (Honest Significant Difference)

ICP: Plasma acoplado inductivamente (Inductively Coupled Plasma)

INE: Instituto Nacional de Estadística

LED: Diodo emisor de luz (Light-Emitting Diode)

MAGRAMA: Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente

MAPAMA: Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente

NDVI: Índice de vegetación diferencial normalizado (Normalized Difference Vegetation Index) (adimensional)

NIR: banda espectral del infrarrojo cercano entre 700-900 nm (Near Infrared Region)

ONU: Organización de Naciones Unidas (United Nations Organization)

PH: etapa fenológica de postcosecha (PostHarvest).

PHDS: Plan Hidrológico de la Demarcación Hidrográfica del Segura

R: banda del visible rojo entre 600-700 nm (Red)

RDC: Riego Deficitario Controlado

SB: Etapa fenológica de brotación y floración (Sprouting and Blooming)

RS: Teledetección (Remote Sensing)

UAV: Vehículo aéreo no tripulado o dron (Unmanned Aerial System)

UE: Unión Europea

UK: Reino Unido (United Kingdom)

USA: Estados Unidos de América (United States of America)

➤ **English acronyms**

C: Control

DOY: Day of Year

RW: Reclaimed Water

RDI: Regulated Deficit Irrigation

TSS: Total Soluble Solids (°Brix)

TW: Transfer Water

WWTP: Waste Water Treatment Plant

➤ **Magnitudes y parámetros**

A: Fotosíntesis neta ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)

AEF: Área Específica Foliar ($\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$)

Chl a: Clorofila a (Chlorophyll a) ($\text{mg}\cdot\text{g}_{\text{MF}}^{-1}$)

Chl b: Clorofila b (Chlorophyll b) ($\text{mg}\cdot\text{g}_{\text{MF}}^{-1}$)

Chl T: Clorofila total (Total Chlorophyll) ($\text{mg}\cdot\text{g}_{\text{MF}}^{-1}$)

Coef a/b: Coeficiente Chl a/Chl b (adimensional)

DPV: Déficit de Presión de Vapor (kPa)

ET: Evapotranspiración ($\text{mm}\cdot\text{día}^{-1}$)

ET_c: Evapotranspiración del cultivo ($\text{mm}\cdot\text{día}^{-1}$)

ET₀: Evapotranspiración de referencia ($\text{mm}\cdot\text{día}^{-1}$)

g_s: Conductancia estomática ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ o $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)

IM: Índice de Madurez (adimensional)

K_c: Coeficiente de cultivo (adimensional)

MF: Masa fresca (g)

N_{area}: Nitrógeno en base al área (g_N·m⁻²)

PA: Productividad del Agua (kg·m⁻³)

PEF: Peso Específico Foliar (g·m⁻²)

SST: Sólidos Solubles Totales (°Brix)

STD: Sólidos Totales Disueltos (mg·L⁻¹)

TA: Acidez Titulable (%)

Ψ_s: Potencial de tallo (MPa)

Ψ_π: Potencial osmótico (MPa)

Ψ_p: Potencial de presión (MPa)

¹⁵N: Isótopo estable del nitrógeno con 8 neutrones

¹⁴N: Isótopo estable del nitrógeno con 7 neutrones

δ¹⁵N: Enriquecimiento de ¹⁵N respecto a ¹⁴N (‰)

¹³C: Isótopo estable del carbono con 7 neutrones

¹²C: Isótopo estable del carbono con 6 neutrones

¹⁸O: Isótopo estable del oxígeno con 10 neutrones

¹⁶O: Isótopo estable del oxígeno con 8 neutrones

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS CAPÍTULO I

Figura I.1. Ubicación de la finca comercial de cítricos ensayada, localizada en Molina de Segura, Murcia (38°07'18''N, 1°13'15''W). Fuente: Adaptada de Google Map.....	45
Figura I.2. Vista panorámica de las parcelas experimentales de mandarino y pomelo, el Canal del trasvase Tajo-Segura y la EDAR de Molina de Segura Norte. Fuente: Adaptada de Google Earth.....	46

FIGURAS CAPÍTULO III

Figura III.1. Crecimiento esperado de la población mundial para el 2100. Fuente: ONU (2017).....	76
Figura III.2. Áreas previstas de crecimiento y descenso de la población para el 2080. Fuente: World Water Assessment Programme (2009).....	76
Figura III. Situación de los indicadores de estado de la sequía hidrológica a fecha 30 de septiembre de 2017. Fuente: MAPAMA (2017).....	79
Figura III.4. Evapotranspiración del cultivo de referencia (ET_0) y cálculo de la evapotranspiración del cultivo (ET_c). Fuente: Adaptado de Allen et al. (1998).....	93
Figura III.5. Imagen de la flor y del fruto de la mandarina Orogrande. Fuente: Propia.....	99
Figura III.6. Árbol <i>Citrus reticulata</i> , variedad Orogrande. Fuente: Propia.....	100
Figura III.7. Imagen de la flor (cerrada) y del fruto del pomelo Star Ruby. Fuente: Propia.....	101
Figura III.8. Árbol <i>Citrus paradisi</i> , variedad Star Ruby. Fuente: Propia.....	101
Figura III.9. Producción de mandarina por países en 2014 a nivel mundial. Fuente: FAOSTAT (2017).....	103

Figura III.10. Producción de pomelos por países en 2014 a nivel mundial. Fuente: FAOSTAT (2017).....	104
Figura III.11. Evolución histórica (2004-2014) de la producción de cítricos en Europa. Fuente: Elaboración propia con datos extraídos de FAOSTAT (2017).....	105
Figura III.12. Producción de cítricos de España respecto a Europa. Fuente: Elaboración propia con datos extraídos de FAOSTAT (2017) y *USDA (2017).....	107
Figura III.13. Producción de cítricos a nivel regional. Fuente: Elaboración propia con datos estadísticos extraídos de CARM (2017).....	108
Figura III.14. Producción de pomelo de la Región de Murcia respecto a España. Fuente: Elaboración propia con datos extraídos de CARM (2017), FAOSTAT (2017) y USDA (2017).....	108
Figura III.15. Principales zonas productoras de cítricos en la Región de Murcia, en función de la superficie cultivada. Fuente: elaboración propia con datos extraídos de CARM (2017).....	109
Figura III.16. Firma espectral de la vegetación. Fuente: Aguilar (2010).....	111

FIGURAS CAPÍTULO IV

Figura IV.1. Vista de la parcela experimental de árboles de pomelo (0,5 ha). Fuente: Propia.....	124
Figura IV.2. Fotografía del Traspase Tajo-Segura. Fuente: página web La Cerca...	125
Figura IV.3. Imagen de la EDAR de Molina de Segura. Fuente: Wikimapia.....	125
Figura IV.4. Equipos para la evaluación de la calidad del agua: a) medidor de oxígeno disuelto, b) pH-metro, c) turbidímetro y d) equipo multi-rango, conductividad eléctrica (CE) y sólidos totales disueltos (STD). Fuente: Propia.....	125
Figura IV.5. Árbol del tratamiento control de Agua del Traspase (AT). Fuente: Propia.....	126
Figura IV.6. Equipo de fotosíntesis portátil LI-6400 Licor. Fuente: propia.....	127

Figura IV.7. Cámara de presión (modelo 3000, Soil Moisture Equipment Corp., Santa Bárbara, California, USA). Fuente: Propia.....	127
Figura IV.8. Equipo de medida de área foliar LI-3100 Licor. Fuente: Propia.....	127
Figura IV.9. Equipo de espectrometría de emisión con plasma acoplado inductivamente ICP-iCAP 6500 Duo Thermo. Fuente: Propia.....	128
Figura IV.10. Cromatógrafo iónico Metrohm. Fuente: Propia.....	128
Figura IV.11. Analizador de carbono y nitrógeno Leco. Fuente: Propia.....	129
Figura IV.12. Espectrofotómetro Thermo Spectronic modelo Helios alpha. Fuente: Propia.....	129
Figura IV.13. Árbol de pomelo 'Star Ruby' de la parcela experimental. Fuente: Propia.....	150
Figura IV.14. Árbol de mandarina Orogrande de la parcela experimental. Fuente: Propia.....	150
Figura IV.15. Trasvase Tajo-Segura. Fuente: propia.....	151
Figura IV.16. Dron (UAV) de alas fijas eBee SenseFly. Fuente: Página web Sensefly.....	152
Figura IV.17. Ejemplo de imagen en la banda espectral del visible. Fuente: Propia...	152
Figura IV.18. Cámara de luz LED (6400-02B) del equipo de fotosíntesis portátil LI-6400. Fuente: Propia.....	153
Figura IV.19. Hoja cubierta de papel de aluminio para la medida de potencial hídrico de tallo. Fuente: Alcobendas (2014).....	154
Figura IV.20. Osmómetro de presión de vapor WESCOR 5520. Fuente: propia.....	154
Figura IV.21. Balanza de precisión Mettler Toledo y cápsulas de estaño para material sólido vegetal. Fuente: Propia.....	174
Figura IV.22. Detalle de las cápsulas de estaño 5 x 9 mm. Fuente: propia.....	174

Figura IV.23. Espectrómetro de Masas de Relaciones Isotópicas de Flujo Continuo, CF-IRMS. Fuente: página web del Stable Isotope Facility, UC Davis.....	175
Figura IV.24. Estación depuradora de aguas residuales de Molina de Segura. Fuente: Página web DAM.....	176
Figura IV.25. Esquema tratamientos de riego: Control y riego deficitario controlado (RDC.). Fuente: Propia.....	177
Figura IV.26. Peso (A) y calibración (B) de frutos en cosecha. Fuente: Propia.....	190
Figura IV.27. Muestreo de fruta para evaluar la calidad en laboratorio. Fuente: Propia.....	190
Figura IV.28. Equipos de medida de la calidad: Calibre, colorímetro, refractómetro, exprimidor y balanza. Fuente: Propia.....	191
Figura IV.29. Valorador automático ácido-base Ω Metrohm. Fuente: propia.....	191

TABLAS CAPITULO III

Tabla III.1. Características principales de los patrones Citrus Macrophylla y Citrange Carrizo. Fuente: Elaboración propia con datos extraídos de Agrológica (2013).....	102
Tabla III.2. Producción y superficie cultivada de cítricos a nivel mundial. Fuente: Elaboración propia con datos estadísticos extraídos de FAOSTAT (2017).....	103
Tabla III.3. Producción y área cultivada de cítricos a nivel nacional. Fuente: Elaboración propia con datos estadísticos extraídos de FAOSTAT (2017a) y *USDA (2017).....	106